

# **Frequenzcharakteristik der sympathischen Übertragung auf die glatte Gefäßmuskulatur**

Habilitationsschrift  
zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach:  
Physiologie

vorgelegt dem  
Rat der Medizinischen Fakultät  
der Humboldt-Universität zu Berlin

von  
Dr. med. Harald Martin Stauß  
geb. am: 14. September 1962  
in: Karlsruhe

Präsident: Prof. Dr. Dr. h.c. Hans Meyer  
Dekan: Prof. Dr. Manfred Dietel

eingereicht am: 20. Februar 1998

Gutachter:

- 1.
- 2.
- 3.

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>iv</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>v</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2 Tierexperimentelle Methoden</b>	<b>8</b>
2.1 Tiere . . . . .	8
2.2 Operationstechniken . . . . .	8
2.2.1 Implantation von Stimulationselektroden in den nucleus paraventricularis . . . . .	9
2.2.2 Implantation von Stimulationselektroden um den N. splanchnicus major . . . . .	9
2.2.3 Implantation von Ableitungselektroden um den N. splanchnicus major . . . . .	10
2.2.4 Implantation von Flußmeßsonden an der A. mesente- rica superior . . . . .	10
2.2.5 Implantation von arteriellen und venösen Gefäßkathetern	11
2.3 Hämodynamische Meßmethoden . . . . .	11
2.3.1 Registrierung des arteriellen Blutdrucks und der Herz- frequenz . . . . .	11
2.3.2 Registrierung der Blutflußgeschwindigkeit und Berech- nung des Gefäßwiderstandes in der A. mesenterica . . .	12
2.3.3 Registrierung der sympathischen Nervenaktivität des N. splanchnicus major . . . . .	12
2.4 Stimulation des N. splanchnicus major . . . . .	13
2.5 Stimulation des nucleus paraventricularis . . . . .	13
2.6 Experimentelle Protokolle . . . . .	14
2.6.1 Stimulation postganglionärer sympathischer Nervenfa- sern . . . . .	14

2.6.2	Hypothalamisch ausgelöste Stimulation des autonomen Nervensystems . . . . .	16
2.7	Methoden der Zeitreihenanalyse . . . . .	17
2.8	Statistische Methoden . . . . .	20
<b>3</b>	<b>Humanphysiologische Methoden</b>	<b>21</b>
3.1	Probanden . . . . .	21
3.2	Experimentelle Bedingungen . . . . .	21
3.3	Hämodynamische Meßmethoden . . . . .	22
3.4	Experimentelles Protokoll . . . . .	23
3.5	Methoden der Zeitreihenanalyse . . . . .	24
3.6	Statistische Methoden . . . . .	25
<b>4</b>	<b>Resultate</b>	<b>26</b>
4.1	Sympathische Übertragung auf Mesenterialgefäße bei wachen Ratten . . . . .	26
4.1.1	Hämodynamische Ausgangsbedingungen . . . . .	27
4.1.2	Effekte der sympathischen Nervenstimulation . . . . .	28
4.1.3	Effekte der Stimulation des PVN . . . . .	35
4.2	Sympathische Übertragung auf Hautgefäße beim Menschen . .	41
4.2.1	Hämodynamische Ausgangsbedingungen . . . . .	42
4.2.2	Hämodynamische Effekte der Stimulation des N. medianus . . . . .	42
4.2.3	Frequenzcharakteristik der sympathischen Übertragung auf die Hautgefäße . . . . .	44
4.3	Autonome Modulation der Herzfrequenz bei wachen Ratten . .	48
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>52</b>
5.1	Sympathische Modulation des Gefäßtonus bei wachen Ratten .	53
5.2	Sympathische Modulation des Gefäßtonus beim Menschen . .	56
5.3	Sympathische und parasympathische Modulation der Herzfrequenz bei wachen Ratten . . . . .	62
5.4	Schlußfolgerungen . . . . .	65
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>67</b>

# Abbildungsverzeichnis

1.1	Blutdrucksignal und Powerspektrum . . . . .	3
2.1	Protokoll der postganglionären sympathischen Stimulation . .	15
3.1	EKG Abtastung mit 100 Hz . . . . .	23
4.1	Hämodynamische Parameter zwischen den einzelnen PVN Sti- mulationssequenzen . . . . .	29
4.2	Originalregistrierung während sympathischer Nervenstimulation	30
4.3	Hämodynamische Effekte sympathischer Nervenstimulation . .	31
4.4	Powerspektren während sympathischer Nervenstimulation . . .	33
4.5	Spektrale Leistungsdichte bei sympathischer Nervenstimulation	34
4.6	Originalregistrierung während elektrischer Stimulation des PVN	36
4.7	Hämodynamische Effekte der Stimulation des PVN . . . . .	37
4.8	Powerspektren während PVN Stimulation . . . . .	38
4.9	Spektrale Leistungsdichte bei PVN Stimulation . . . . .	39
4.10	Transfer- und Kohärenzfunktion der sympathischen Übertrag- ung auf die Gefäßmuskulatur . . . . .	41
4.11	Hämodynamische Parameter zwischen den einzelnen N. me- dianus Stimationssequenzen . . . . .	43
4.12	Hämodynamische Effekte der Stimulation des N. medianus . .	44
4.13	Originalregistrierung während Stimulation sympathischer Hautfasern des N. medianus . . . . .	45
4.14	Powerspektren während Stimulation des N. medianus . . . . .	46
4.15	Spektrale Leistungsdichte während Stimulation des N. medianus	47
4.16	Effekte der PVN Stimulation auf die Herzfrequenz und auf die spektrale Leistungsdichte . . . . .	49
4.17	Powerspektren der Herzfrequenz während PVN Stimulation . .	50
5.1	Beziehung zwischen Diffusionszeit und Aufenthaltswahr- scheinlichkeit von Noradrenalinmolekülen in bestimmten Abständen von den sympathischen Varikositäten . . . . .	59

# Tabellenverzeichnis

2.1	Übersicht aller tierexperimentellen Protokolle . . . . .	18
4.1	Hämodynamische Ausgangswerte in den tierexperimentellen Studien . . . . .	27

# Kapitel 1

## Einleitung

Bei vielen Erkrankungen kann die Kenntnis der Aktivität des autonomen Nervensystems wichtige Hinweise für die Diagnostik, Differentialtherapie und Prognoseabschätzung des Krankheitsverlaufs geben. Beispiele sind die diabetische Polyneuropathie, bei der es durch die Neuropathie zu einer gestörten Weiterleitung der autonomen Aktivität zu den Erfolgsorganen wie dem Herzen oder den Blutgefäßen kommt [35] oder die Herzinsuffizienz, bei der eine hohe sympathische Aktivität eine schlechte Prognose erwarten läßt [14, 26, 91]. Ein anderes Beispiel ist die arterielle Hypertonie. Geht die Hypertonie mit einer hohen sympathischen Nervenaktivität einher, so könnten Sympatholytika anderen Antihypertensiva gegenüber überlegen sein.

Zur Erfassung der autonomen Nervenaktivität stehen beim Menschen verschiedene Methoden zur Verfügung [53]. Laborchemisch kann die Plasmakonzentration verschiedener Katecholamine bestimmt werden. Katecholaminkonzentrationen sind jedoch nicht einfach zu bewerten [27], da die Plasmakonzentration die Summe der Katecholamine aller Organe des Körpers darstellt, die sympathische Aktivität zu einzelnen Organen jedoch nicht immer einheitlich reguliert wird [3, 54, 96]. Die Plasma-Katecholaminkonzentration stellt also eine unselektive Größe dar, die nicht notwendigerweise mit der sympathischen Aktivität zu einem bestimmten Organ korreliert. Außerdem ist z.B. die frühe Phase der Bluthochdruckentwicklung oft von einer Steigerung der sympathischen Aktivität zum Herzen, zum Intestinum und zu den Nieren begleitet, nicht aber mit einer Steigerung der sympathischen Aktivität zur Skelettmuskulatur [27]. Die erstgenannten Organe sind für die Kreislaufregulation sehr wichtig, setzen aber selbst bei starker sympathischer Aktivierung quantitativ nur relativ geringe Mengen an Katecholaminen frei. Dagegen trägt die Skelettmuskulatur auch bei geringer sympathischer Aktivität zu diesem Gefäßgebiet quantitativ sehr stark zur Plasma-Katecholaminkonzentration bei. Plasma-Katecholaminkonzentrationen sind

also aus mehreren Gründen weniger gut geeignete Marker für die sympathische Aktivität. Ein besseres Maß ist dagegen die Bestimmung des lokalen Katecholaminsatzes einzelner Organe [22–24, 43, 54]. Dies setzt jedoch eine invasive Methodik mit Gefäßkatheteruntersuchungen voraus und ist sicherlich nicht als Routinemethode einsetzbar.

Eine andere Methode der Erfassung der sympathischen Nervenaktivität ist durch die Mikroneurographie gegeben [4, 80, 103]. Dabei werden dünne Nadelelektroden in peripher liegende sympathische Nerven (z.B. N. peroneus) platziert und die elektrische Aktivität des Nerven aufgezeichnet. In der Regel werden damit Nervenfasern, die zur Skelettmuskulatur oder zur Haut ziehen, abgeleitet. Eine Aussage über die sympathische Aktivität zu inneren Organen wie dem Herzen kann damit jedoch ebenso wenig getroffen werden. Aus diesem Grund und wegen des hohen Maßes an technischem Aufwand kann diese Methode ebenfalls nicht als Routinemethode zur Erfassung der sympathischen Nervenaktivität herangezogen werden.

Seit nunmehr fast zehn Jahren wird die Methode der Powerspektralanalyse von Blutdruck und Herzfrequenz eingesetzt, um Auswirkungen sympathischer Aktivität auf den Gefäßwiderstand (Powerspektralanalyse des Blutdrucks) sowie Auswirkungen sympathischer und parasympathischer Aktivität auf die Schrittmacherfunktion des Sinusknotens (Powerspektralanalyse der Herzfrequenz) zu untersuchen [51, 61, 63]. Die Methode der Powerspektralanalyse erfordert lediglich die Registrierung des arteriellen Blutdrucks oder der Herzfrequenz. Beide Signale können nicht-invasiv erfaßt werden. Im Falle des Blutdrucks steht die Methode der Fingerplethysmographie (Finapres) [59] zur Verfügung. Die Herzfrequenz kann sehr genau aus dem EKG berechnet werden [6].

In zunehmendem Maße wird die Methode der Powerspektralanalyse auch für klinisch relevante Fragestellungen eingesetzt. So wurde in einer Studie von Elghozi und Mitarbeitern [21] gezeigt, daß ein mit diesen Methoden berechneter Marker der sympathischen Innervation der Blutgefäße ("low frequency power" des Blutdrucksignals) bei Hypertonikern, durch das Antisymphotonikum Clonidin reduziert werden kann. In einer anderen Studie von Pagani et al. [62] wurde die Methode der Powerspektralanalyse der Herzfrequenz bei Patienten nach vorausgegangenem Herzinfarkt eingesetzt und gefunden, daß bei diesen Patienten die sympathische Aktivität zum Herzen während Applikation von "psycho-sozialem" Streß weniger ansteigt als bei gesunden Probanden. Eine weitere klinische Anwendung stellt die Diagnose der autonomen Neuropathie im Rahmen einer diabetischen Grundkrankheit dar [28].

Bei der Powerspektralanalyse werden digitalisierte Signale (z.B. Blutdruck- oder Herzfrequenzsignale) in einzelne Frequenzbereiche zerlegt. Physiologisch beruht die Methode der Powerspektralanalyse darauf, daß der

Blutdruck und die Herzfrequenz auf modulierende Einflüsse unterschiedlicher regulierender Systeme wie dem autonomen Nervensystem, dem Renin-Angiotensin-System, dem Kallikrein-Kinin-System, oder dem Stickstoffmonoxid-System unterschiedlich schnell reagieren [51, 58, 68–70]. Zum Beispiel wirkt die Thermoregulation nur sehr langsam auf den Gefäßwiderstand ein und kann sich daher nur in den sehr niederfrequenten Bereichen des Powerspektrums des Blutdrucks bemerkbar machen. Andererseits sind sympathische Einflüsse auf den Gefäßwiderstand schnellere Phänomene und werden daher im Powerspektrum bei höheren Frequenzen als die Thermoregulation abgebildet. Die unterschiedlichen Geschwindigkeiten, mit denen blutdruckrelevante Regulationssysteme auf den Gefäßwiderstand einwirken führen dazu, daß im Powerspektrum alle blutdruck- und herzfrequenzregulierenden Systeme bei bestimmten, charakteristischen Frequenzen abgebildet werden. Durch diese Eigenschaft können die Einflüsse auf den Blutdruck bzw. auf die Herzfrequenz, die von verschiedenen kreislaufrelevanten Regulationssystemen ausgehen, unterschieden werden. Erschwert wird dieses Verfahren allerdings dadurch, daß sich die Frequenzbereiche der Regulationssysteme auch überlappen können und damit eine Zuordnung bestimmter Frequenzbereiche zu bestimmten blutdruck- oder herzfrequenzregulierenden Systemen nicht eindeutig möglich ist.

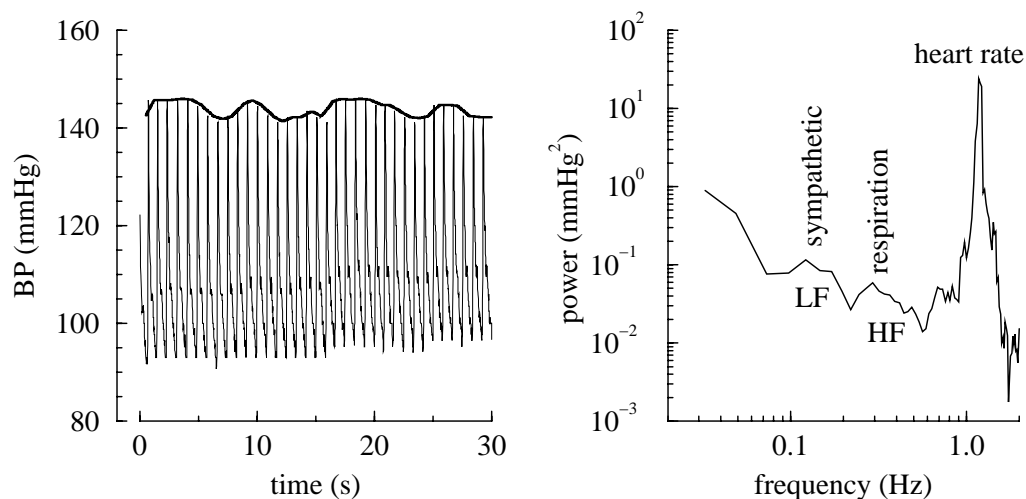


Abbildung 1.1: Ausschnitt aus einem Blutdrucksignal eines 34-jährigen männlichen Probanden (links) und daraus berechnetes Powerspektrum (rechts).

Als Beispiel ist in Abb. 1.1 (links) ein Ausschnitt aus einem Blutdrucksignal eines 34-jährigen männlichen Probanden gezeigt. Im Blutdruck-



signal sind zwei charakteristische Oszillationen erkennbar. Zum einen die diastolisch-systolischen Blutdruckschwankungen, die die Herzfrequenz widerspiegeln und zum anderen die atemabhängigen Blutdruckschwankungen, die am besten im systolischen Blutdrucksignal erkennbar sind. Die Zerlegung dieses Blutdrucksignals in seine Frequenzanteile mit der Methode der Powerspektralanalyse (siehe Abb. 1.1, rechts) läßt entsprechende "Peaks" bei den Frequenzen der Herzfrequenz (1.2 Hz) und der Atemfrequenz (0.25 - 0.40 Hz) erkennen. Des weiteren ist im Powerspektrum ein "Peak" bei 0.1 - 0.2 Hz vorhanden. Dieser Frequenzbereich wird im allgemeinen als "low-frequency oscillation" (LF) bezeichnet und der Aktivität des sympathischen Nervensystems zugeordnet [2, 51, 52, 60]. Die schnelleren atemsynchronen Frequenzanteile werden dagegen als "high frequency oscillations" (HF) bezeichnet und sind im Blutdrucksignal auf atemmechanische Einflüsse, sowie auf atemsynchrone Schwankungen des Herzminutenvolumens, die durch die respiratorische Sinusarrhythmie hervorgerufen werden zurückzuführen [38, 63].

Zur sinnvollen Anwendung der Methode der Powerspektralanalyse ist es demnach erforderlich, das genaue Frequenzverhalten unterschiedlicher kreislaufregulierender Systeme zu kennen. So wurden z.B. in einer Studie von Berger, Saul und Cohen [7] bei narkotisierten Hunden sympathische und parasympathische Nervenfasern zum Herzen elektrisch stimuliert und die Übertragung der sympathischen und parasympathischen Stimulation auf die Herzfrequenz untersucht. Dabei wurde gefunden, daß die sympathische Übertragung auf die Herzfrequenz nur bis zu Frequenzen von ungefähr 0.15 Hz möglich ist, während im Falle der parasympathischen Stimulation zumindest bis 0.70 Hz keine wesentliche Einschränkung der Übertragung auf die Herzfrequenz nachweisbar war. Frequenzanteile oberhalb von 0.15 Hz im Powerspektrum der Herzfrequenz beim Hund können also nicht durch eine direkte sympathische Modulation der Herzfrequenz hervorgerufen werden. Von der selben Arbeitsgruppe wurde gefunden, daß diese Frequenzcharakteristik der sympathischen und parasympathischen Modulation der Herzfrequenz nicht nur für den Hund, sondern auch für den Menschen Gültigkeit hat [77, 78].

Während also die sympathische Übertragung auf den Sinusknoten und damit auf die Schrittmacherfunktion des Herzens sehr gut untersucht ist, liegen zur Übertragung sympathischer Reize auf die glatte Gefäßmuskulatur nach Kenntnis des Autors bisher nur wenige Arbeiten aus den 60er Jahren vor [67, 74, 81]. Die Kenntnis der sympathischen Übertragung auf die glatte Gefäßmuskulatur ist jedoch entscheidend für die Interpretation von Powerspektren des arteriellen Blutdrucks, da periodische Schwankungen des Blutdrucks unter anderem von sympathisch, über  $\alpha_1$ -adrenerge Rezeptoren vermittelte Änderungen des peripheren Widerstandes hervorgerufen werden können. In der Studie von Rosenbaum und Race [74] wurde die sympathische

Übertragung auf die glatte Gefäßmuskulatur an barbiturat-narkotisierten Hunden am Modell des isolierten Hinterbeins untersucht. Dabei wurde der sympathische Lumbalnerv elektrisch stimuliert und die Reaktion der Durchblutung des Hinterbeins, das an einen extrakorporalen Kreislauf angeschlossen war, aufgezeichnet. Die Autoren fanden, daß die Zeitkonstante, mit der die Gefäße des Hinterbeins auf die elektrische Stimulation des Lumbalnerven ansprachen ungefähr eine Minute betrug. Eine derartig verzögerte Reaktion der glatten Gefäßmuskulatur auf sympathische Reize steht jedoch im Widerspruch zu Befunden an Hunden, die zeigten, daß die sympathische Modulation des Blutdrucks bei Frequenzen um 0.1 Hz (Zeitkonstante also 10 Sekunden und nicht eine Minute) am effektivsten ist [12, 15, 41, 61, 71]. In der anderen Studie aus den 60er Jahren [67, 81] wurde die Durchblutung eines isolierten Hautareals der lateralen Kniegegend bei morphin-chloralose-narkotisierten Hunden während elektrischer Stimulation des zugehörigen Nerven untersucht. Dabei wurde die maximale Vasokonstriktion 8-10 s nach dem elektrischen Reiz beobachtet. Diese Zeitkonstante steht also im Einklang mit der heutigen Auffassung, daß die sympathische Modulation des Gefäßtonus bei Hunden bei Frequenzen um 0.1 Hz am effektivsten ist.

Außer den erwähnten Arbeiten aus den 60er Jahren [67, 74, 81] existieren nach Kenntnis des Autors keine weiteren Studien zur Frequenzcharakteristik der sympathischen Modulation des Gefäßwiderstandes. Die vorliegende Habilitationsschrift stellt Experimente an wachen Ratten und an Menschen vor, in denen diese Problematik mit moderneren experimentellen und analytischen Methoden untersucht wurde. Diese Arbeiten erweitern die Grundlage zur Interpretation von Powerspektren des arteriellen Blutdrucks und geben darüber hinaus wichtige Einsichten in die Funktion der Übertragung sympathischer Aktivität auf das Erfolgsorgan des glatten Gefäßmuskels. Speziell werden drei Studien vorgestellt. Dabei wurde das autonome Nervensystem jeweils mit wechselnden Stimulationsfrequenzen angeregt und die Reaktionen verschiedener Erfolgsorgane auf diese Stimulationen erfaßt. Zwei dieser drei Studien wurden an wachen Ratten durchgeführt [88, 90], während in der dritten Studie [85] die Ergebnisse aus den Tierexperimenten am Menschen überprüft wurden. Diese dritte Studie war dadurch motiviert, daß es indirekte Hinweise aus der Literatur gab, daß die Frequenzbereiche, in denen die Übertragung des Sympathikus auf die glatte Gefäßmuskulatur am effektivsten ist, bei Mensch und Tier unterschiedlich sind. Z.B. wurde in Studien am Menschen der Sympathikotonus durch Streßapplikation erhöht [51, 60] beziehungsweise pharmakologisch reduziert [21] und dabei gefunden, daß der dadurch beeinflusste Frequenzbereich des Powerspektrums des Blutdrucks beim Menschen um 0.1 Hz zentriert ist. Experimente an wachen Ratten, bei denen autonome Rezeptorblocker appliziert wurden [39] oder "air-jet-stress" ange-

wendet wurde [10] zeigten, daß in diesem Tiermodell die sympathische Modulation des Blutdrucks in einem Frequenzbereich von 0.2 - 0.6 Hz stattfindet. Diese Studien geben also indirekte Hinweise darauf, daß die sympathische Übertragung auf die glatte Gefäßmuskulatur bei Ratten viel schneller ist als beim Menschen. Studien, bei denen sympathische Nerven elektrisch stimuliert und die Antwort der glatten Gefäßmuskulatur aufgezeichnet wurde gibt es außer den bereits erwähnten Arbeit aus den 60er Jahren [67, 74, 81], die an narkotisierten Hunden durchgeführt wurden nicht und fehlen für den Menschen ganz. Ziel war es, diese Lücken durch die experimentellen Arbeiten der vorliegenden Habilitationsschrift zu schließen. Speziell wurde in einer ersten Studie bei wachen Ratten ein sympathischer Nerv (N. splanchnicus major) mit unterschiedlichen Reizfrequenzen direkt stimuliert und die Änderungen der Durchblutung in der von diesem Nerven innervierten Arterie (A. mesenterica superior) bei den jeweiligen Stimulationsfrequenzen aufgezeichnet. Dies ermöglichte die Charakterisierung der Frequenzantwort der sympathischen Übertragung auf die glatte Gefäßmuskulatur bei wachen Ratten. Um zu untersuchen, ob die extrem langen Zeitkonstanten, die Rosenbaum und Race [74] bei narkotisierten Hunden gefunden hatten auf die Einflüsse der Barbituratnarkose zurückzuführen sind, wurde die direkte Stimulation des N. splanchnicus major in dieser Studie auch an barbiturat-narkotisierten Ratten wiederholt. Die direkte Nervenstimulation ist jedoch in soweit unphysiologisch, da der sympathische Reiz an einem postganglionären sympathischen Nerven ausgelöst wurde. Unter physiologischen Bedingungen hat ein sympathischer oder parasympathischer Reiz seinen Ursprung jedoch im zentralen Nervensystem. Daher haben wir in einer zweiten tierexperimentellen Studie einen hypothalamischen Hirnkern der direkte Verbindungen zu sympathischen und parasympathischen Zentren innerhalb des zentralen Nervensystem besitzt elektrisch stimuliert. Dieser hypothalamische Hirnkern war der nucleus paraventricularis (PVN). Die kleinzelligen Neurone des PVN haben direkte Verbindungen zum nucleus tractus solitarius, zu präganglionären Neuronen des dorsalen Vaguskerne, zum nucleus ambiguus (von dem präganglionäre parasympathische Neurone zum Herzen verlaufen), zur rostroventrolateralen Medulla (die wahrscheinlich für die Aktivität der sympathischen Innervation der Gefäßmuskulatur verantwortlich ist), sowie zu den präganglionären sympathischen Neuronen der Intermediolateralregion des Rückenmarks [5, 50, 75, 92]. Elektrische Stimulation des PVN führt also zu einer Aktivierung des Sympathikus [42] und des Parasympathikus [48, 73]. Durch Stimulation des PVN und gleichzeitiger Registrierung der Herzfrequenz, der Aktivität des sympathischen N. splanchnicus major sowie der Durchblutung in der A. mesenterica war es in dieser Studie möglich, an wachen Ratten die Frequenzcharakteristik hypothalamisch induzierter sympathischer Modula-

tion des Gefäßtonus sowie hypothalamisch induzierter autonomer (sympathischer und parasympathischer) Modulation der Herzfrequenz zu untersuchen. Schließlich wurden diese tierexperimentellen Befunde auf die Situation beim Menschen übertragen, indem sympathische Hautfasern des N. medianus mit wechselnden Stimulationsfrequenzen elektrisch (über Mikroneurographienadeln) stimuliert wurden und die Hautdurchblutung im innervierten Bereich am Handballen mit der Methode der Laser-Doppler-Flußmessung registriert wurde.

# Kapitel 2

## Tierexperimentelle Methoden

### 2.1 Tiere

Alle tierexperimentellen Versuche wurden an männlichen Sprague-Dawley Ratten durchgeführt. Die Ratten wurden im Alter von drei Monaten von der Firma Harlan, Indianapolis, IN, USA bezogen. Nach Operationen bzw. während des Protokolls wurden die Tiere einzeln in Plexiglaskäfigen gehalten. Die Tierräume waren klimatisiert und der Tag-Nacht Zyklus wurde durch entsprechende Beleuchtung (Licht an von 6:00 Uhr bis 18:00 Uhr, sonst Licht aus) sichergestellt. Die Ratten hatten freien Zugang zu einem Standardfutter und Trinkwasser. Die Tierexperimente wurden von der zuständigen Kommission der University of Iowa, Iowa City, IA, USA genehmigt.

### 2.2 Operationstechniken

Alle Operationen wurden in Pentobarbital-Narkose (Nembutal<sup>®</sup>, 60 mg/kg i.p.) durchgeführt. Nach Beendigung der Operationen wurden die Tiere bis zum Erwachen mit einer Wärmelampe warm gehalten und beobachtet. Der Arbeitsplatz, an dem die Operationen durchgeführt wurden war mit einem beheizbaren Operationstisch, der auf 37° C thermostatiert war, sowie einem Stereo-Operationsmikroskop (Olympus, SZ40, Leeds, Precision Instruments, Minneapolis, MN, USA) ausgestattet. Des weiteren stand ein Satz mikrochirurgischer Instrumente zur Verfügung.

### **2.2.1 Implantation von Stimulationselektroden in den nucleus paraventricularis**

Die chronische Implantation von Stimulationselektroden in den nucleus paraventricularis (PVN) wurde gemäß einer früher bereits beschriebenen Methode durchgeführt [44, 45]. Diese Operation wurde in allen Fällen mindestens eine Woche vor den hämodynamischen Messungen durchgeführt, damit ein sich gelegentlich bei intrakraniellen Operationen entwickelndes Hirnödem zum Zeitpunkt der Experimente resorbiert war. Nach Narkose mit einer Kombination aus Pentobarbital (Nembutal<sup>®</sup>, 60 mg/kg i.p.) und Atropin (0.3 mg/kg i.p.) wurde eine Trepanation der Schädeldecke durchgeführt und eine bipolare Mikroelektrode (MS303/2, Plastics One, Roanoke, VA, USA) mit einem Durchmesser von 0.2 mm in den PVN eingeführt. Dazu wurde ein stereotaktischer Apparat verwendet, der eine genaue Einstellung der Koordinaten in drei Dimensionen erlaubte. Die Koordinaten des PVN wurden entsprechend den Angaben der Literatur [64] 1.8 mm posterior des Bregmas, 0.4 mm lateral der Sagittalnaht und 7.3 mm unterhalb der Dura gewählt. Nachdem die Elektrode platziert war, wurde sie an der Schädeloberfläche mit einer kleinen Menge Zahnzement fixiert. Die korrekte Lage der Elektrode im PVN wurde am Ende der Experimente in allen Fällen histologisch überprüft. Falls sich dabei herausstellte, daß die Elektrode nicht im PVN zu liegen kam oder falls sichtbare Defekte hypothalamischer Strukturen vorlagen wurden die Tiere von der Studie ausgeschlossen.

### **2.2.2 Implantation von Stimulationselektroden um den N. splanchnicus major**

Diese Operation wurde jeweils am Vorabend eines Experimentes gegen 19:00 Uhr begonnen. Der Zeitpunkt war dabei sehr wichtig, da im Verlauf der Operation der Nerv cranial der Elektrode durchtrennt wurde und damit ein Degenerationsprozess des Nerven einsetzte. Die Durchtrennung des Nerven war notwendig, um retrograde Stimulationen in Richtung zentrales Nervensystem auszuschließen. Die Implantation der Stimulationselektroden wurde entsprechend der von Schad und Seller [79] 1975 erstmals für die Katze und von Thorén und Ricksten [94] 1979 erstmals für die Ratte beschriebenen Verfahren zur Implantation von Ableitelektroden durchgeführt. Diese Operationstechnik wurde vom Autor in zahlreichen Studien [47, 65, 83–90, 102] angewendet. Nach Einleitung der Narkose wurde die Haut in der linken Flanke und im Nacken rasiert. Der Zugang zum Retroperitoneum wurde über eine Inzision in der Flanke geschaffen. Der Nerv wurde mit Hilfe des Operationsmikroskopes identifiziert und auf die Stimulationselektrode, die aus zwei zu

kleinen Häkchen gebogenen Silberdrähten (AS769-740, Cooner Wire, Chatsworth, CA, USA) bestand, aufgelegt. Danach wurde der Nerv zusammen mit der Elektrode mit einer kleinen Menge an Silikongel (Silgel 604A und 604B, Wacker-Chemie, München) elektrisch gegen das umliegende Gewebe isoliert und fixiert. Sobald das Silikongel fest geworden war (ca. 15 Minuten) wurde der Nerv cranial der Elektrode durchtrennt um eine afferente Stimulation zu vermeiden. Die Drähte der Elektrode mündeten zusammen mit den Drähten der Flußmeßsonde, die in der gleichen Operationssitzung auf die A. mesenterica superior implantiert wurde, in einen gemeinsamen Stecker. Die Kabel wurden subkutan zum Nacken geführt und der miniaturisierte Stecker dort in die Haut vernäht. Die Muskelschichten und die Haut wurden durch Naht verschlossen und die Tiere bis zum Erwachen warm gehalten und beobachtet.

### **2.2.3 Implantation von Ableitungselektroden um den N. splanchnicus major**

Die Implantation von Ableitungselektroden am N. splanchnicus major erfolgte analog zur Implantation von Stimulationselektroden. Der einzige Unterschied dabei war, daß der Nerv in diesem Falle nicht durchtrennt wurde. Der Anteil afferenter Nervenfasern in diesem Nerven ist sehr gering, sodaß das mit dieser Methode erfaßte Nervensignal hauptsächlich als efferente Nervenaktivität angesehen werden kann.

### **2.2.4 Implantation von Flußmeßsonden an der A. mesenterica superior**

Die Methode der Implantation von Flußmeßsonden erfolgte nach einer Methode die vom Autor bereits in früheren Studien [86, 89, 100] angewendet wurde. Die Flußmeßsonden bestanden aus runden Quarzkristallscheiben mit einem Durchmesser von 1 mm, an die zwei feine Silberdrähte gebondet waren. Um den Kristall war eine Silikonmanschette (Innendurchmesser 1,22 mm) gegossen, die so um das Gefäß gelegt werden konnte, daß die Oberfläche der Kristallscheibe einen Winkel von etwa  $45^\circ$  zur Längsachse des Gefäßes hatte. Die Implantation der Flußmeßsonde erfolgte während der gleichen Operation und via dem selben Zugang wie die Implantation der Nervelektrode. Während der Präparation der Arterie wurde besonders darauf geachtet, den sympathischen N. splanchnicus major, der sich in unmittelbarer Nachbarschaft befindet, nicht zu verletzen. Noch bevor der Nerv auf die beiden Häkchen der Nervelektrode aufgelegt wurde, wurde die Silikonmanschette um die A. mesenterica superior gelegt und mit einem Faden, der durch

die Manschette gezogen war, am Gefäß fixiert. Dabei wurde darauf geachtet, daß das Gefäß weder durch die Silikonmanschette, noch durch die Fixationsnaht im Lumen eingengt wurde. Erst wenn die Flußmeßsonde implantiert war, wurde die Nervenlektrode am Nerv angebracht. Die Anschlußdrähte der Flußmeßsonde wurden subkutan zum Nacken geführt und mündeten zusammen mit den Anschlußdrähten der Nervenlektrode in einen miniaturisierten Stecker. Dieser Stecker wurde im Nacken in die Haut vernäht. Die Muskelschichten und die Haut der Flanke wurden durch Naht verschlossen und die Tiere bis zum Erwachen warm gehalten und beobachtet.

### **2.2.5 Implantation von arteriellen und venösen Gefäßkathetern**

Arterielle und venöse Gefäßkatheter wurden in der selben Operationssitzung, in der auch die Nervenlektroden und Flußmeßsonden implantiert wurden, in die Femoralgefäße eingebracht. Dazu wurde die Haut in der rechten Leiste rasiert und der Gefäßnervenstrang dargestellt. Unter Schonung des N. femoralis wurde die A. femoralis von der V. femoralis getrennt und beide Gefäße mit Polyethylenkathetern (PE-50, Clay Adams, Parsippany, NJ, USA) cannüliert. Die Katheter wurden unter der Haut zum Nacken getunnelt und dort zusammen mit dem Stecker für die Nervenlektrode und die Flußmeßsonde in die Haut vernäht. Die Inzision in der Leiste wurde genäht und die Katheter mit heparinisierter Kochsalzlösung gespült und verschlossen.

## **2.3 Hämodynamische Meßmethoden**

Alle hämodynamischen Signale lagen als analoge Spannungen vor, welche proportional zum jeweils gemessenen Parameter waren. Die analogen Spannungen wurden einem Computersystem zur Meßwerterfassung (MacLab/8s, AD Instruments, Castle Hill, Australia) zugeführt. Mit diesem System wurden die analogen Signale mit einer Abtastrate von 400 Hz pro Meßkanal digitalisiert, am Bildschirm dargestellt und auf der Festplatte abgespeichert.

### **2.3.1 Registrierung des arteriellen Blutdrucks und der Herzfrequenz**

Der Blutdruck wurde über den arteriellen Katheter einem Druckwandler (P23 XL, Gould-Statham, Oxnard, CA, USA) zugeführt. Dieser wandelte den mechanischen Druck in elektrische Widerstandsänderungen um, die von einem Brückenverstärker (model 7 polygraph, Grass Instruments, Quincy,



MA, USA) in zum Blutdruck proportionale Spannungen umgesetzt wurde. Dieses analoge Signal wurde zu einem Tachographen (model 7 polygraph, Grass Instruments, Quincy, MA, USA) weitergeleitet, der daraus eine zur Herzfrequenz analoge Spannung erzeugte. Das Ausgangssignal des Tachographen änderte seine Spannung entsprechend dem zeitlichen Abstand zweier aufeinanderfolgender Blutdruckamplituden mit jedem Herzschlag.

### **2.3.2 Registrierung der Blutflußgeschwindigkeit und Berechnung des Gefäßwiderstandes in der A. mesenterica**

Die Blutflußgeschwindigkeit in der A. mesenterica wurde mit der Methode der Doppler-Ultraschallflußmessung registriert. Der Kristall, welcher auf die Mesenterialarterie implantiert wurde lieferte eine Wechsellspannung. Die Frequenz dieser Wechsellspannung (sogenannter "Doppler shift") war proportional zur Blutflußgeschwindigkeit (in cm/s) in der Arterie. Ein Doppler-Gerät (Model 545C-2, Dept. of Bioengineering, Iowa City, IA, USA) erzeugte aus dieser Wechsellspannung eine analoge Spannung, die der Frequenz der Wechsellspannung ("Doppler shift") des Kristalls und damit der Blutflußgeschwindigkeit proportional war. Da der genaue Durchmesser der Arterie bei dieser Methode nicht bekannt war, kann der tatsächliche Blutfluß nicht als absolute Meßgröße (in ml/min) angegeben werden. Es wird daher der "Doppler shift" (in kHz) angegeben. Dieser Wert ist proportional zur Blutflußgeschwindigkeit im Gefäß. Bei konstantem Gefäßdurchmesser ist der "Doppler shift" auch proportional zum Blutfluß. Ein Problem kann sich dann ergeben, wenn es durch eine experimentelle Intervention zu einer Änderung des Gefäßdurchmessers kommt. In diesem Fall wäre der "Doppler shift" zwar nach wie vor proportional zur Blutflußgeschwindigkeit (in cm/s), nicht aber zum absoluten Blutfluß (in ml/min). Aus den Meßgrößen Blutflußgeschwindigkeit und Blutdruck wurde als Anhaltspunkt für den Gefäßwiderstand der Quotient aus Blutdruck und Blutflußgeschwindigkeit berechnet. Diese Berechnung erfolgte off-line am Ende eines jeden Versuchs.

### **2.3.3 Registrierung der sympathischen Nervenaktivität des N. splanchnicus major**

Die sympathische Nervenaktivität des N. splanchnicus major wurde von bipolaren Elektroden abgegriffen. Das Elektrodensignal entsprach dabei der Summennervenaktivität aller Nervenfasern und wurde von einem Vorverstärker (series P5, Grass Instruments, Quincy, MA, USA) mit einer Gesamtverstärk-

ung von  $10^3$  verstärkt und bandpassgefiltert (10 Hz-3 kHz). Dieses gefilterte und vorverstärkte Signal wurde einem speziellen Verstärker zugeführt, in dem das Signal zunächst gleichgerichtet, dann integriert und nochmals verstärkt ( $10^2$ - $10^4$ -fach) wurde. Das daraus resultierende analoge Signal (mean rectified nerve signal) war proportional zur Summennervenaktivität des N. splanchnicus major. Da die Verstärkungsfaktoren der Meßverstärker bekannt waren, konnte die Summennervenaktivität als absolute Spannung (in  $\mu\text{V}$ ) angegeben werden.

## 2.4 Stimulation des N. splanchnicus major

Das Computersystem zur Datenerfassung hatte einen eingebauten Stimulator, der es ermöglichte elektrische Spannungen computergesteuert über einen digital-analog Wandler auszugeben. Dieser Stimulator des MacLab/8s Systems wurde zur Nervenstimulation eingesetzt. Zur Stimulation wurden je Stimulus Salven von sechs Rechteckimpulsen mit einer Spannung von 2.5 V und einer Dauer von 2 ms auf die Stimulationselektrode und damit auf den Nerv übertragen. Die sechs Rechteckimpulse wurden mit einer Frequenz von 20 Hz ( $\tau=50$  ms) verabreicht. Die Gesamtdauer einer Salve betrug damit  $5 * 50$  ms = 250 ms. Daraus ergab sich die höchste Stimulationsfrequenz von  $1/(2*250 \text{ ms}) = 2$  Hz. Während der Experimente wurden diese Salven von jeweils sechs Rechteckimpulsen mit sechs verschiedenen Stimulationsfrequenzen die zwischen 0.05 und 2.0 Hz lagen bei wachen Ratten verabreicht. Die Ratten zeigten während der Stimulation keinerlei Zeichen von Schmerzen oder sonstiger Irritationen. Da der Nerv proximal von der Stimulationselektrode durchtrennt war, konnte eine afferente Stimulation in Richtung zentrales Nervensystem ausgeschlossen werden.

## 2.5 Stimulation des nucleus paraventricularis

Die elektrische Stimulation des PVN wurde mit einem Grass S44 Stimulator (Grass Medical Instruments, Quincy, MA, USA), der über eine Konstantstromeinheit (model CCU1A, Grass Medical Instruments, Quincy, MA, USA) mit der Stimulationselektrode verbunden war, durchgeführt. Der PVN wurde mit Salven von jeweils sechs Rechteckimpulsen von 2 ms Dauer stimuliert. Die Frequenz der Rechteckimpulse betrug 20 Hz ( $\tau=50$  ms). Die Gesamtdauer einer Salve betrug also 250 ms ( $5 * 50$  ms). Derartige Salven wurden mit Stimulationsfrequenzen von 0.05 bis 2.0 Hz bei wachen Ratten verabreicht. Vor jedem Experiment wurde für jede einzelne Ratte die klein-

ste Reizstromstärke ermittelt, bei der ein Blutdruckanstieg von mindestens 5 mmHg zu verzeichnen war. Dazu wurde die Reizstromstärke von 50  $\mu\text{A}$  langsam bis zu maximal 250  $\mu\text{A}$  erhöht und die Blutdruckantwort beobachtet. Die Stromstärke, bei der der Blutdruck um mindestens 5 mmHg über den Ausgangsblutdruck (ohne Stimulation) angestiegen war, wurde während des Experimentes verwendet. Bei den meisten Experimenten lag die dazu notwendige Stromstärke unter 200  $\mu\text{A}$ . Mit diesem Protokoll zeigten die wachen Ratten während der Stimulation keinerlei Zeichen von Schmerzen oder sonstige auffällige Verhaltensmuster.

## 2.6 Experimentelle Protokolle

In zwei unabhängigen tierexperimentellen Studien wurde die Signalübertragung von autonomen Nerven auf die Erfolgsorgane glatter Gefäßmuskulatur und Sinusknoten des Herzens untersucht. In der ersten Studie [90] wurden an wachen Ratten postganglionäre Fasern des sympathischen N. splanchnicus major elektrisch stimuliert und die Reizantwort der glatten Gefäßmuskulatur der A. mesenterica superior untersucht. In der zweiten Studie [88], die ebenfalls an wachen Ratten durchgeführt wurde, wurde der hypothalamische PVN elektrisch stimuliert und die Reizantwort im sympathischen Nervensignal des N. splanchnicus major, dem Gefäßwiderstand der Mesenterialarterie, sowie die Reizantwort der Schrittmacherfunktion des Sinusknotens studiert. Elektrische Stimulationen des PVN führen sowohl zu einem Anstieg der peripheren sympathischen [42] als auch parasympathischen [48, 73] Nervenaktivität. Daher war es möglich, die Frequenzcharakteristik hypothalamisch-induzierter sympathischer Modulation des Gefäßtonus zusammen mit hypothalamisch-induzierter sympathischer und parasympathischer Modulation der Herzfrequenz zu untersuchen.

### 2.6.1 Stimulation postganglionärer sympathischer Nervenfasern

Diese Studie wurde an elf Ratten durchgeführt. Zwölf Stunden vor dem ersten Experiment wurden arterielle und venöse Gefäßkatheter, Nervenstimulationselektroden auf dem N. splanchnicus major, sowie Doppler-Flußmeßsonden auf der A. mesenterica chronisch implantiert. Das erste Experiment begann dann am nächsten Morgen gegen 8:00 Uhr. Die genaue Einhaltung dieses Zeitplans erwies sich als notwendig, da Vorversuche zeigten, daß 24 Stunden postoperativ (also nach proximaler Durchtrennung des Nerven) die Abnahme der Durchblutung der Mesenterialarterie durch elektrische Stimulation des

distalen Nervenstumpfes deutlich abgeschwächt war und 36 Stunden postoperativ keine Gefäßantwort mehr nachweisbar war. Während der Experimente konnten sich die Ratten in einem Plexiglaskäfig (45 x 25 x 20 cm, Länge x Breite x Höhe) frei bewegen. Nachdem der arterielle Katheter mit dem Druckwandler und der im Nacken implantierte Stecker mit dem Stimulator und dem Doppler-Gerät verbunden waren, wurde zwischen 15 und 20 Minuten mit dem Beginn der Experimente gewartet, bis sich die wachen Ratten an die experimentelle Situation gewöhnt hatten.

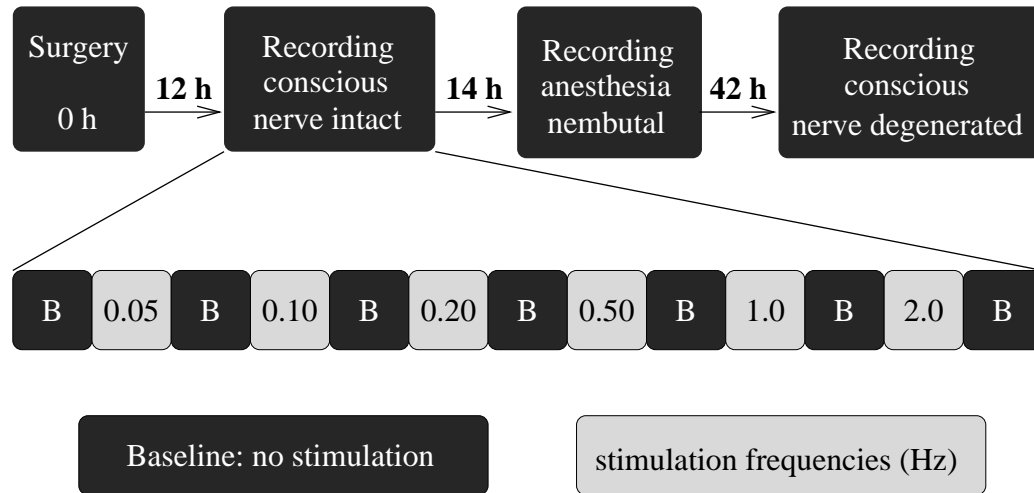


Abbildung 2.1: Protokoll der postganglionären sympathischen Stimulation (Erläuterungen im Text)

Das experimentelle Protokoll ist in Abb. 2.1 dargestellt und bestand aus sechs Aufzeichnungsperioden mit zunehmenden Stimulationsfrequenzen. Jede dieser sechs Aufzeichnungsperioden bestand aus einer drei-minütigen Kontrollregistrierung ohne Stimulation und einer drei-minütigen Registrierung während der der N. splanchnicus major elektrisch stimuliert wurde. Die Stimulationsfrequenzen betrugen 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 und 2.0 Hz. Nach Abschluß dieses ersten Protokolls wurden die Ratten sofort mit Pentobarbital (Nembutal<sup>®</sup>, 30 mg/kg i.v.) narkotisiert. Nachdem sich die hämodynamischen Parameter stabilisiert hatten, wurde das Stimulationsprotokoll mit den selben sechs Stimulationsfrequenzen wiederholt. Das Protokoll unter Narkose wurde durchgeführt um zu untersuchen, ob die extrem langen Zeitkonstanten der sympathischen Übertragung auf die Gefäßmuskulatur, die Rosenbaum und Race [74] bei barbiturat-narkotisierten Hunden beobachtet hatten, auf den Einfluß der Narkose zurückzuführen sind. Nach Ende dieses zweiten Protokolls wurden die Ratten bis zum Erwachen beobachtet

und dann in die Tierversuchsanlage zurückgebracht. Bei sieben der elf Ratten wurde das experimentelle Protokoll am Nachmittag des darauffolgenden Tags (42 Stunden postoperativ) noch einmal im wachen Zustand wiederholt. Bei vier Tieren konnte dieses Protokoll nicht durchgeführt werden, da über Nacht die Doppler-Flußsonde dispositioniert war und kein zufriedenstellendes Signal mehr lieferte. Zu diesem Zeitpunkt wurde der elektrische Reiz nicht mehr zum Gefäß übertragen, da der distale Nervenstumpf bereits degeneriert und funktionell inaktiv war. Dieses dritte experimentelle Protokoll wurde durchgeführt um unspezifische Effekte zu kontrollieren, die dadurch zustande kommen könnten, daß elektrische Ladungen in die Bauchhöhle wacher Ratten eingebracht wurden. Da der Nerv zu diesem Zeitpunkt degeneriert und funktionell inaktiv war, können alle hämodynamischen Reaktionen auf die Nervenstimulation in diesem Experiment auf unspezifische, sensorisch vermittelte Effekte zurückgeführt werden.

### **2.6.2 Hypothalamisch ausgelöste Stimulation des autonomen Nervensystems**

Insgesamt wurden für diese Studie 20 Ratten mit Stimulationselektroden im PVN, arteriellen und venösen Gefäßkathetern, Nervenableitungselektroden am N. splanchnicus major und Doppler-Flußmeßsonden an der A. mesenterica superior chronisch instrumentiert. Von diesen 20 Tieren mußten jedoch 10 Ratten gemäß zuvor definierter Kriterien von der Studie ausgeschlossen werden. Fünf Ratten wurden ausgeschlossen, weil das Nervensignal des N. splanchnicus major nach intravenöser Bolusinjektion von Natrium-Nitroprussid nicht anstieg oder nach Injektion von Phenylephrin nicht abfiel. Weitere fünf Ratten wurden ausgeschlossen, da die histologische Untersuchung des Gehirns am Ende des Experiments ergab, daß die PVN Elektrode nicht im PVN zu liegen kam oder stimulationsbedingte Läsionen im Bereich des Hypothalamus nachweisbar waren.

Jede Ratte durchlief vier experimentelle Protokolle, die an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt wurden. Das erste Protokoll fand am ersten postoperativen Tag statt. Während der Experimente befanden sich die wachen Ratten in einem Plexiglaskäfig mit den Abmessungen 45 x 25 x 20 cm (Länge x Breite x Höhe). Nachdem die Verbindungen zum Druckwandler, zum Nervenaktivitätsvorverstärker, zum Dopplergerät und zum Grass S44 Stimulator hergestellt waren, wurde mit dem Beginn der Experimente ca. 30-45 Minuten gewartet, damit sich die Tiere an die experimentelle Situation gewöhnen konnten. Danach wurde die Qualität des sympathischen Nervensignals des N. splanchnicus major getestet, indem intravenöse Bolusinjektionen

von Phenylephrin (10  $\mu\text{g/kg}$ ) und Natrium-Nitroprussid (10  $\mu\text{g/kg}$ ) appliziert wurden. Ratten, die keine klaren Anstiege der sympathischen Nervenaktivität mit Natrium-Nitroprussid oder keine klaren Abfälle der sympathischen Nervenaktivität mit Phenylephrin zeigten wurden von der Studie ausgeschlossen. Während der Experimente waren die Ratten nicht immobilisiert und konnten sich frei im Plexiglaskäfig bewegen.

Jedes experimentelle Protokoll bestand aus acht Registrierungen während denen der PVN mit jeweils ansteigenden Stimulationsfrequenzen stimuliert wurde. Jede dieser acht Registrierungen bestand aus einer drei-minütigen Kontrollregistrierung, die unmittelbar von einer zweiten drei-minütigen Registrierung mit Stimulation des PVN gefolgt wurde. Die acht Stimulationsfrequenzen betrugen 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, und 2.0 Hz und wurden in ansteigender Reihenfolge verabreicht. Am ersten experimentellen Tag wurde das experimentelle Protokoll während Kontrollbedingungen (Infusion von physiologischer Kochsalzlösung, 1 ml/h i.v.) und entweder während  $\beta_1$ -adrenerger Rezeptorblockade mit Atenolol (12 mg/kg i.v. Bolusinjektion gefolgt von 30 mg/kg/h i.v. Infusion) oder muskarinerger Rezeptorblockade mit Methyloscopamin (40  $\mu\text{g/kg}$  i.v. Bolusinjektion gefolgt von 120  $\mu\text{g/kg/h}$  i.v. Infusion) durchgeführt. Am zweiten experimentellen Tag wurde das Protokoll mit der jeweils anderen autonomen Rezeptorblockade ( $\beta_1$ -adrenerg oder muskarinerg) und während Ganglienblockade mit Hexamethonium (10 mg/kg i.v. Bolusinjektion gefolgt von 50 mg/kg/h i.v. Infusion) wiederholt. Die Wirksamkeit der  $\beta_1$ -adrenergen und muskarinergen Rezeptorblockaden wurde vor und nach dem Stimulationsprotokoll durch die Abwesenheit einer Herzfrequenzantwort auf intravenöse Bolusinjektionen von Isoprenalin (2  $\mu\text{g/kg}$ ) bzw. Acetylcholin (3  $\mu\text{g/kg}$ ) getestet. Die Ganglienblockade wurde durch die Abwesenheit einer Herzfrequenzantwort auf eine Bolusinjektion von Natrium-Nitroprussid (10  $\mu\text{g/kg}$ ) überprüft.

## 2.7 Methoden der Zeitreihenanalyse

Bei jedem experimentellen Protokoll wurden sechs (Stimulation N. splanchnicus major) bzw. acht (Stimulation des PVN) Stimulationsfrequenzen getestet, denen jeweils eine Kontrollregistrierung vorangestellt war. Außerdem wurde am Ende des Experiments eine weitere abschließende Kontrollregistrierung aufgezeichnet. Damit lagen also für jedes experimentelle Protokoll 13 (Stimulation n. splanchnicus major) bzw. 17 (Stimulation PVN) dreiminütige Aufzeichnungssegmente (Zeitreihen) vor. Eine Übersicht aller tierexperimentellen Protokolle ist in Tabelle 2.1 wiedergegeben.

Der Tabelle ist zu entnehmen, daß insgesamt 1057 Zeitreihen (Abstra-

Tabelle 2.1: Übersicht aller tierexperimentellen Protokolle

Gruppe	Ort der Stimulation	experimentelle Bedingungen	Anzahl Tiere	Anzahl Zeitreihen
1	Nerv	Kontrolle	11	13
2	Nerv	Narkose	11	13
3	Nerv	degenerierter Nerv	7	13
4	PVN	Kontrolle	10	17
5	PVN	$\beta_1$ -adrenerge Blockade	10	17
6	PVN	muskarinerge Blockade	10	17
7	PVN	Ganglienblockade	10	17
Gesamt			21	1057

te 400 Hz) mit jeweils drei (Stimulation N. splanchnicus major: Blutdruck, Herzfrequenz und Durchblutung der Mesenterialarterie) bzw. vier (PVN Stimulation: Blutdruck, Herzfrequenz, Aktivität des N. splanchnicus major und Durchblutung der Mesenterialarterie) verschiedenen Parametern vorlagen. Für jede Ratte wurden die Mittelwerte aus den  $13 \times 3 = 39$  bzw.  $17 \times 4 = 68$  einzelnen dreiminütigen Zeitreihen für alle Parameter berechnet. Die Gefäßwiderstände der Mesenterialarterie wurden als Quotient aus Blutdruck und Blutflußgeschwindigkeit berechnet. Zusätzlich zu den Mittelwerten wurden die Differenzen aus den Mittelwerten während Stimulation und den Mittelwerten während der vorangestellten Kontrollregistrierungen (ohne Stimulation), für alle Stimulationsfrequenzen berechnet.

Powerspektralanalysen wurden von den Signalen des arteriellen Blutdrucks, der Herzfrequenz, der Blutflußgeschwindigkeit in der Mesenterialarterie, dem Gefäßwiderstand der Mesenterialarterie und im Falle der PVN Stimulation auch vom Signal der Aktivität des sympathischen N. splanchnicus major durchgeführt. Alle Signale außer dem Gefäßwiderstand lagen als dreiminütige Zeitreihen mit einer Abtastrate von 400 Hz vor. Alle 1057 Zeitreihen wurden am Computermonitor graphisch dargestellt und im Falle von Artefakten wurden diese manuell durch Interpolationen entsprechend der vorausgehenden und nachfolgenden Werten ersetzt. Solche Artefakte konnten durch Bewegungen der Katheterschläuche und Elektrodenkabel bei wachen, sich frei bewegenden Ratten vorkommen. Der Anteil der Zeitreihen, bei denen Artefakte entfernt werden mußten war jedoch sehr gering ( $< 1\%$ ). Die nun artefaktfreien Zeitreihen (Abtastrate 400 Hz) wurden mit einer oberen Grenzfrequenz von 3 Hz tiefpassgefiltert und mit einer Abtastrate von 12.5 Hz (Stimulation des N. splanchnicus major) bzw. 10.0 Hz (Stimulation des PVN) erneut abgetastet. Die nun vorliegenden Zeitreihen bestanden also

aus 2250 (Stimulation des N. splanchnicus major) bzw. 1800 (Stimulation des PVN) Datenpunkten. Aus diesen tiefpassgefilterten Zeitreihen wurden neue Zeitreihen für den Gefäßwiderstand der Mesenterialarterie berechnet, indem für jeden Datenpunkt der Blutdruckzeitreihe und für jeden zeitgleichen Datenpunkt der Blutflußgeschwindigkeit der Quotient gebildet wurde. Im nächsten Schritt wurde im Falle der Stimulation des N. splanchnicus major ein Segment von 2048 Datenpunkten (163 Sekunden) und im Falle der Stimulation des PVN ein Segment von 1024 Datenpunkte (102 Sekunden) für die Spektralanalyse ausgewählt. Dabei wurde darauf geachtet, daß die ausgewählten Segmente stationäre Kurvenverläufe aufwiesen. Von diesen 2048 bzw. 1024 Datenpunkte langen Zeitreihen wurden schließlich die Powerspektren mit der Methode der Fast-Fourier Transformation (FFT) berechnet. Von allen 13 bzw. 17 Powerspektren eines jeden experimentellen Protokolls wurde die Fläche unter der Kurve in einem Frequenzband von  $\pm 0.024$  Hz ( $\equiv 5$  Werte) um die jeweilige Stimulationsfrequenz berechnet. Zusätzlich wurden die Differenzen der Flächen unter der Kurve der Powerspektren während Stimulation und der Flächen unter der Kurve der Powerspektren der zugehörigen Kontrollregistrierung ohne Stimulation berechnet.

In der Studie in der der PVN elektrisch stimuliert wurde, war es möglich, die periphere sympathische Nervenaktivität des N. splanchnicus major zusammen mit den stimulationsbedingten Änderungen des Gefäßwiderstandes der Mesenterialarterie zu erfassen. Daher war es möglich, die sympathische Übertragung auf die glatte Gefäßmuskulatur mit den Methoden der Kohärenzanalyse zu studieren und außerdem die Transferfunktion der beiden Signale zu berechnen. Dazu wurde die Methode, die von Berger und Mitarbeitern [7] beschrieben wurde in leicht modifizierter Form angewendet. Aus den Zeitreihen (10 Hz Abtastrate, 1024 Datenpunkte) für die sympathische Nervenaktivität (Eingangssignal  $s_{xx}(i)$ ) und für den Gefäßwiderstand (Ausgangssignal  $s_{yy}(i)$ ) wurden die Autospektren  $S_{xx}(q)$  und  $S_{yy}(q)$ , sowie das Kreuzspektrum  $S_{xy}(q)$  mit dem FFT-Algorithmus berechnet. Die quadrierte Kohärenzfunktion  $\gamma^2(q)$  wurde daraus wie folgt berechnet:

$$\gamma^2(q) = \frac{|S_{xy}(q)|^2}{S_{xx}(q) S_{yy}(q)}$$

Die Verstärkung der Transferfunktion  $|H(q)|$  wurde gemäß der folgenden Formel berechnet:

$$|H(q)| = \left| \frac{S_{xy}(q)}{S_{xx}(q)} \right|$$

Für jede Ratte wurde die quadrierte Kohärenzfunktion  $\gamma^2(q)$  und die Verstärkung der Transferfunktion  $|H(q)|$  aus dem sympathischen Nerven-



signal und dem Gefäßwiderstand für alle acht Zeitreihen mit Stimulation des PVN unter Kontrollbedingungen (Infusion von physiologischer Kochsalzlösung) und während Ganglienblockade berechnet. Daraus ergaben sich  $2 \times 8 = 16$  Kohärenz- und Transferfunktionen je Ratte. Von diesen Kohärenz- und Transferfunktionen wurden ebenso die Flächen unter der Kurve in einem Frequenzband von  $\pm 0.024$  Hz ( $\equiv 5$  Werte) um die jeweilige Stimulationsfrequenz berechnet und die Flächen unter der Kurve gegen die jeweilige Stimulationsfrequenz graphisch aufgetragen. Zusätzlich wurde für jede Ratte die Kohärenz- und Transferfunktion aus der ersten Ruheregistrierung vor der ersten PVN-Stimulation während Kontrollbedingungen (Infusion von physiologischer Kochsalzlösung) berechnet.

## 2.8 Statistische Methoden

Alle Daten werden als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts angegeben. Statistische Vergleiche zwischen Werten während Stimulation und der vorausgehenden Ruheregistrierung (ohne Stimulation) wurden mit dem Student t-Test für gepaarte Beobachtungen durchgeführt. Unterschiede zwischen Meßwerten aus den unterschiedlichen experimentellen Protokollen (wach, Narkose, degenerierter Nerv bzw. physiologische Kochsalzlösung versus verschiedene autonome Rezeptorblockaden) wurden mit der ein-Weg Varianzanalyse für unabhängige Beobachtungen auf statistische Signifikanz untersucht. Falls die ein-Weg Varianzanalyse statistische Signifikanz ergab, wurde der post-hoc t-Test angewendet um Unterschiede zwischen den einzelnen experimentellen Protokollen aufzudecken. Das Signifikanzniveau wurde auf  $P < 0.05$  festgelegt.

# Kapitel 3

## Humanphysiologische Methoden

### 3.1 Probanden

In diese Studie wurden zwölf männliche Probanden im Alter von 25 bis 40 Jahren eingeschlossen. Kein Proband stand zum Zeitpunkt der Studie unter irgendeiner medikamentösen Behandlung. Die Experimente wurden in einem klimatisierten Raum mit konstanter Temperatur (20 °C) und Luftfeuchtigkeit (70 %) durchgeführt. Alle Probanden gaben ihr schriftliches Einverständnis an der Studie teilzunehmen und wurden zuvor ausführlich über das Protokoll und mögliche Risiken informiert. Die Experimente wurden von der zuständigen Kommission der University of Iowa, Iowa City, IA, USA auf ihre ethische Vertretbarkeit hin geprüft und genehmigt.

### 3.2 Experimentelle Bedingungen

Während der Experimente lagen die Probanden auf einer Untersuchungsfläche in Rückenlage. EKG-Elektroden wurden gemäß den drei bipolaren Standardableitungen nach Einthoven angelegt, ein Pneumotachographsensor zur Erfassung der Atemtätigkeit wurde am Thorax befestigt und ein Finapres Sensor zur Blutdruckmessung wurde am dritten Finger der rechten Hand angebracht. Der Verlauf des N. medianus in der Ellenbeuge des linken Arms wurde durch perkutane Stimulation lokalisiert. Danach wurde der Nerv mit einer Mikroneurographieelektrode aus Wolfram (200  $\mu\text{m}$  Schaftdurchmesser, Länge der unisolierten Spitze 1-5  $\mu\text{m}$ ) punktiert. Eine Referenzelektrode kam ca. 1-3 cm von der Stimulationselektrode entfernt subkutan zu liegen. Während kontinuierlicher Stimulation wurde die Stimulationselektrode solange auf und

ab bewegt, bis die unisolierte Spitze der Elektrode in sympathischen Hautfasern des N. medianus zu liegen kam. Die korrekte Lage der Elektrode in sympathischen Hautfasern des Nervs wurde durch klar definierte Kriterien kontrolliert:

1. Es durften keine Muskelkontraktionen während der Stimulation auftreten.
2. Wahrnehmung von Parästhesien während der Stimulation in einem Hautareal des linken Handballen.
3. Anstieg der Nervenaktivität, die via Stimulationselektrode aufgezeichnet wurde, während taktiler Reizung der Haut im Bereich des linken Handballens.
4. Anstieg der Nervenaktivität, die via Stimulationselektrode aufgezeichnet wurde, während Applikation eines sympathischen Stimulus (plötzlich auftretender akustischer Reiz hoher Intensität).

Nachdem die Stimulationselektrode positioniert war, wurde eine Laser-Doppler Flußmeßsonde am linken Handballen genau an der Stelle angebracht, an der der Proband während der Stimulation die Parästhesien wargenommen hatte. Eine zweite Laser-Doppler-Flußmeßsonde wurde an der gleichen Lokalisation der rechten Hand befestigt. Dies ermöglichte die synchrone Registrierung der Hautdurchblutung an der stimulierten und nicht-stimulierten Hand und damit die Kontrolle von unspezifischen, nicht durch die elektrische Stimulation des Nervens hervorgerufene Änderungen der Hautdurchblutung.

### 3.3 Hämodynamische Meßmethoden

Die analogen Signale für das EKG und die Atemtätigkeit wurden von einem Standard-Elektrokardiographen bzw. von einem Pneumotachographen bereitgestellt. Das pulsatile Blutdrucksignal wurde mit der Finapres Methode (Ohmeda 2350 Finapres Monitor, Ohmeda, Englewood, CO, USA) [59] registriert. Während des Tests der korrekten Positionierung der Stimulationselektrode wurde das sympathische Nervensignal der Hautfasern des N. medianus aufgezeichnet. Dazu wurde ein spezieller Meßverstärker für Nervenaktivitäten (nerve traffic analyzer, Dept. of Bioengineering, University of Iowa, Iowa City, IA, USA) verwendet. Die elektrische Stimulation des Nervs erfolgte mit einem Stimulator (Grass S48 stimulator, Grass Instruments, Quincy, MA, USA). Die Hautdurchblutung der ipsi- und kontralateralen Hand wurde mit einem zwei-Kanal Laser-Doppler Gerät (Laser FLO Blood Perfusion Monitor

BPM 403A, Vasamedics Inc., St. Paul, MN, USA) gemessen. Diese Methode wurde 1991 von Haynes beschrieben [31]. Die fünf analogen Signale der verschiedenen Meßgeräte (EKG, Atmung, Blutdruck und Hautdurchblutung der ipsilateralen und kontralateralen Hand) wurden mit einem Computersystem zur Meßwerterfassung (MacLab/8s, AD Instruments Pty Ltd., Castle Hill, Australia) mit einer Abtastrate von 100 Hz je Kanal aufgezeichnet. Die Abtastrate war so gewählt, daß eine genaue Abtastung des EKGs möglich war und auf eine R-Zacke des EKGs mindestens zehn Abtastwerte entfielen (siehe Abbildung 3.1). Diese Abtastung des EKGs mit 100 Hz ermöglichte die Erfassung von Herzfrequenzschwankungen (aus dem EKG berechnet) von weniger als einem Herzschlag pro Minute. Die analogen Signale der Hautdurchblutung wurden vor der Umwandlung von analog zu digital mit einem analogen Filter, der in das Laser-Doppler Gerät integriert war tiefpassgefiltert. Die Grenzfrequenz dieses Filters betrug 10 Hz ( $\tau=0.1$  s). Damit waren aliasing-bedingte Effekte ausgeschlossen.

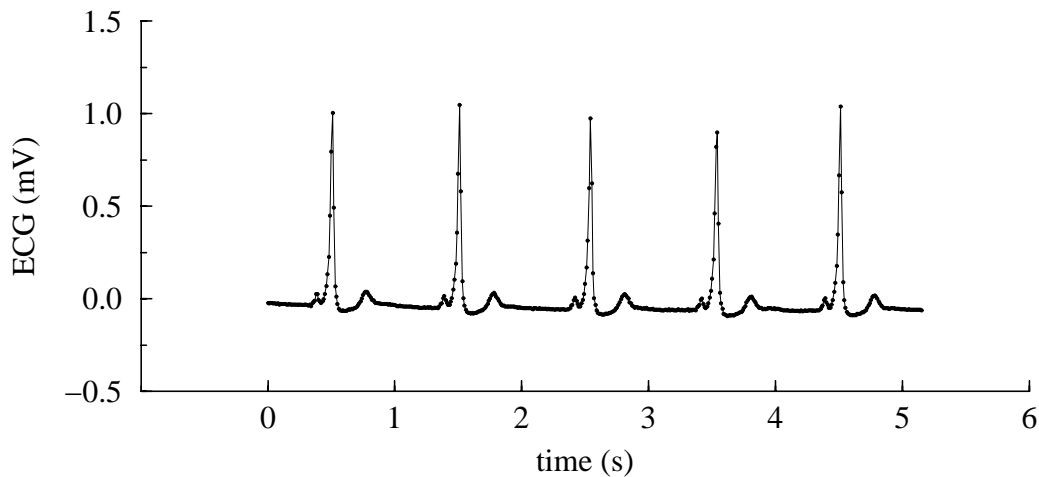


Abbildung 3.1: Fünf QRS-Komplexe aus einer Registrierung des EKGs, die mit 100 Hz abgetastet wurde. Die Punkte entsprechen den abgetasteten Datenpunkten. In jeder R-Zacke sind mindestens 10 Abtastpunkte enthalten. Die Auflösung des Herzfrequenzsignals, das aus dieser Registrierung berechnet wurde, ist kleiner als ein Herzschlag pro Minute.

### 3.4 Experimentelles Protokoll

Alle humanphysiologischen Experimente wurden in einem klimatisierten Untersuchungsraum durchgeführt. Die Raumtemperatur betrug 20 °C und die Luftfeuchtigkeit 70 %. Es wurde darauf geachtet, störende Geräusche und

andere Einflüsse zu vermeiden. Die Probanden lagen in Rückenlage auf einer Untersuchungsfläche. Sobald die Stimulationselektrode in Hautfasern des linken N. medianus positioniert und die korrekte Lage gemäß oben genannten Bedingungen verifiziert war, wurden die beiden Laser-Doppler Sonden positioniert. Die erste Sonde wurde genau an der Stelle des Handballens fixiert, an der der Proband während der Stimulation der Nervenfasern Parästhesien spürte, während die zweite Sonde an der gleichen Stelle der kontralateralen Hand befestigt wurde. Nun wurde die minimale Spannung bestimmt, die notwendig war, um durch elektrische Stimulation der Hautfasern des N. medianus einen Abfall im Laser-Doppler Signal der ipsilateralen Hand zu erzielen. Danach wurde das EKG, der Blutdruck, die Atemtätigkeit, sowie die beiden Laser-Doppler Signale der ipsi- und kontralateralen Hand über einen Zeitraum von 22 Minuten aufgezeichnet, ohne dabei den Nerv zu stimulieren. Nach dieser ersten Kontrollregistrierung wurden elektrische Stimulationen des N. medianus mit sieben verschiedenen Stimulationsfrequenzen durchgeführt. Jede Aufzeichnungsperiode mit Stimulation des Nervs wurde von einer gleich langen Kontrollregistrierung ohne Stimulation des Nervs eingeleitet, die jeweils als direkte Kontrolle für die Registrierung während Stimulation des Nervs diente. Die sieben Stimulationsfrequenzen betrugen 0.01, 0.025, 0.05, 0.075, 0.1, 0.25 und 0.5 Hz. Die Stimulationen wurden in Salven von jeweils sechs Rechteckimpulsen mit einer Spannung von 0.8-1.2 V, einer Impulsdauer von 10 ms und einer Impulsfrequenz von 20 Hz verabreicht. Jede Salve hatte also eine Dauer von 260 ms. Um bei jeder Stimulationsfrequenz eine ausreichende Anzahl von Stimuli zu applizieren wurden die Zeitdauern der Registrierungen an die Stimulationsfrequenzen angepaßt. Die Zeitdauern der Registrierungen lagen demnach zwischen 22 Minuten bei einer Stimulationsfrequenz von 0.01 Hz und 3 Minuten bei einer Stimulationsfrequenz von 0.5 Hz. Die Zeitdauer eines gesamten Experimentes betrug für jeden Probanden etwa 2 Stunden.

### 3.5 Methoden der Zeitreihenanalyse

Von jedem der 12 Probanden lagen 15 Zeitreihen (7 Stimulationsfrequenzen mit jeweils einer Kontrollregistrierung, sowie eine abschließende Kontrollregistrierung am Ende des Versuchs) mit jeweils 5 verschiedenen Signalen (EKG, Blutdruck, Atemtätigkeit und zwei Laser-Doppler Signale) vor. Aus den EKG Signalen wurden neue, äquidistant abgetastete (100 Hz) Zeitreihen der Herzfrequenz berechnet. Dazu wurde die Methode von Berger et al. [6] angewendet. Das Datenmaterial dieser Studie bestand also aus 1080 Zeitreihen (12 Probanden, 15 Aufzeichnungen mit jeweils 6 Signalen), die

mit einer Abtastrate von 100 Hz aufgezeichnet wurden. Alle 1080 Zeitreihen wurden manuell am Computerbildschirm betrachtet und Artefakte wurden durch eine auf den vorangehenden und nachfolgenden Meßwerten basierenden Interpolation ersetzt. Insgesamt wurden weniger als 1 % der Meßwerte durch Interpolationen ersetzt. Von den derart bearbeiteten Zeitreihen wurden die Mittelwerte berechnet sowie die Differenzen der Mittelwerte während Stimulation und der Mittelwerte während der vorausgegangenen Kontrollregistrierung bestimmt. Außerdem wurde von den Zeitreihen der Laser-Doppler Signale die Powerspektren mit der Methode der FFT berechnet. Die Anzahl der Datenpunkte (Abtastrate 100 Hz) für die FFT betrugen in der Reihenfolge aufsteigender Stimulationsfrequenzen 131.072, 65.536, 32.768, 32.768, 16.384, 16.384 und 16.384 Werte. Die Zeitreihe mit der langsamsten Stimulationsfrequenz (0.01 Hz) war also 22 Minuten lang, während die Zeitreihe mit der schnellsten Stimulationsfrequenz (0.5 Hz) nur 3 Minuten lang war. Dieses Protokoll stellte sicher, daß in jeder Zeitreihe mindestens 13 Stimulationen enthalten waren. Von allen Powerspektren wurden die Flächen unter der Kurve in Frequenzbereichen, die um die Stimulationsfrequenzen zentriert waren ( $0.01 \pm 0.005$ ,  $0.025 \pm 0.01$ ,  $0.05 \pm 0.02$ ,  $0.075 \pm 0.02$ ,  $0.1 \pm 0.02$ ,  $0.25 \pm 0.1$  und  $0.5 \pm 0.1$  Hz) berechnet. Außerdem wurden die Differenzen der Flächen unter den Kurven der Powerspektren während den Stimulationen und den Flächen unter den Kurven der Powerspektren während den vorangehenden Kontrollregistrierungen bestimmt.

### 3.6 Statistische Methoden

Die Mittelwerte der Zeitreihen für den Blutdruck, die Herzfrequenz und die beiden Laser-Doppler Signale während Stimulation des N. medianus und während der jeweils vorausgehenden Kontrollregistrierung wurden mit dem gepaarten Student t-Test verglichen. Die Mittelwerte der 8 Kontrollregistrierungen (7 Registrierungen vor Stimulation und eine Kontrollregistrierung am Ende des Experiments) wurden mit der ein-Weg Varianzanalyse für wiederholte Meßwerte verglichen. Im Falle der Signifikanz der ein-Weg Varianzanalyse ( $p < 0.05$ ) wurden post-hoc Student t-Teste durchgeführt um Unterschiede zwischen den einzelnen Kontrollregistrierungen zu finden. Die Flächen unter den Kurven der Powerspektren vor Stimulation (Kontrollregistrierung) und während Stimulation des N. medianus wurden mit dem gepaarten Student's t-Test verglichen. Statistische Signifikanz wurde jeweils bei  $p < 0.05$  angenommen.

# Kapitel 4

## Resultate

In den Experimenten der vorliegenden Arbeit wurde die sympathische Übertragung auf die glatte Gefäßmuskulatur der Mesenterialarterie bei wachen Ratten sowie auf Hautgefäße beim Menschen untersucht. Außerdem wurde die Frequenzcharakteristik der sympathischen und parasympathischen Übertragung auf den Sinusknoten des Herzens bei wachen Ratten bestimmt und damit die Möglichkeiten der Modulation der Herzfrequenz durch das autonome Nervensystem studiert. Die Ergebnisse dieser Experimente werden im folgenden dargestellt.

### 4.1 Sympathische Übertragung auf Mesenterialgefäße bei wachen Ratten

Die sympathische Übertragung auf die Mesenterialgefäße bei wachen Ratten wurde während sieben verschiedenen experimentellen Bedingungen untersucht:

1. Stimulation des N. splanchnicus major während Kontrollbedingungen
2. Stimulation des N. splanchnicus major während Barbituratnarkose
3. Stimulation des degenerierten N. splanchnicus major
4. Stimulation des PVN während Kontrollbedingungen
5. Stimulation des PVN während  $\beta_1$ -adrenerger Rezeptorblockade
6. Stimulation des PVN während muskarinerger Rezeptorblockade
7. Stimulation des PVN während Ganglienblockade

### 4.1.1 Hämodynamische Ausgangsbedingungen

Die hämodynamischen Ausgangswerte für den Blutdruck, die Herzfrequenz, den Blutfluß und den Gefäßwiderstand in der Mesenterialarterie, sowie die sympathische Nervenaktivität des N. splanchnicus major sind in Tabelle 4.1 wiedergegeben.

Gruppe	n	MAP mmHg	HR bpm	SpNA $\mu$ V	MBF kHz	MR mmHg/kHz
1	11	123 $\pm$ 3	426 $\pm$ 8	-	3.63 $\pm$ 0.47	41.6 $\pm$ 6.3
2	11	90 $\pm$ 4 *	356 $\pm$ 10 *	-	3.46 $\pm$ 0.53	33.6 $\pm$ 6.0
3	7	117 $\pm$ 6	392 $\pm$ 21	-	3.47 $\pm$ 0.32	36.4 $\pm$ 4.4
4	10	119 $\pm$ 3	445 $\pm$ 10	44.7 $\pm$ 5.5	7.3 $\pm$ 0.5	17.5 $\pm$ 1.8
5	10	117 $\pm$ 4	364 $\pm$ 9 *	45.4 $\pm$ 7.1	6.5 $\pm$ 0.6	19.7 $\pm$ 2.5
6	10	117 $\pm$ 4	486 $\pm$ 14 *	45.5 $\pm$ 4.7	6.7 $\pm$ 0.7	20.1 $\pm$ 3.3
7	10	82 $\pm$ 5 *	373 $\pm$ 19 *	36.8 $\pm$ 4.5 *	4.4 $\pm$ 0.5 *	21.7 $\pm$ 3.9

Tabelle 4.1: Hämodynamische Ausgangswerte in den tierexperimentellen Studien. Die Werte entsprechen den Mittelwerten der 3-minütigen Registrierung vor der ersten Stimulation. Gruppen 1-3: Stimulation des N. splanchnicus major (1: Kontrolle, 2: Narkose, 3: degenerierter Nerv); Gruppen 4-7: Stimulation des PVN (4: Kontrolle, 5:  $\beta_1$ -adrenerge Blockade, 6: muskarinerge Blockade, 7: Ganglienblockade); MAP: mittlerer Blutdruck, HR: Herzfrequenz, SpNA: sympathische Nervenaktivität des N. splanchnicus major; MBF: Blutflußgeschwindigkeit (Doppler-shift) in der Mesenterialarterie; MR: Gefäßwiderstand in der Mesenterialarterie, \*:p<0.05 versus Gruppe 1 bzw. versus Gruppe 4.

In den Versuchsgruppen, in denen der sympathische N. splanchnicus major direkt stimuliert wurde (Gruppen 1-3 in Tabelle 4.1) kam es während Narkose (Gruppe 2) im Vergleich zu wachen Tieren (Gruppe 1) zu einem Abfall des Blutdrucks und der Herzfrequenz. Die Blutflußgeschwindigkeit sowie der Gefäßwiderstand in der Mesenterialarterie wurden durch die Narkose jedoch nicht beeinflußt. Die hämodynamischen Ausgangsbedingungen 42 Stunden postoperativ (Gruppe 3), also zum Zeitpunkt an dem der Nerv bereits degeneriert war, waren identisch mit den hämodynamischen Ausgangsbedingungen zum Zeitpunkt 12 Stunden postoperativ (Gruppe 1).

Die hämodynamischen Ausgangsbedingungen bei Tieren, die zur elektrischen Stimulation des PVN instrumentiert waren, sind ebenfalls in Tabelle 4.1 (Gruppen 4-7) aufgeführt. Ganglienblockade (Gruppe 7) führte im Vergleich zu Kontrollbedingungen (Gruppe 4) zu einem Abfall des Blutdrucks, der Herzfrequenz, der Aktivität des N. splanchnicus major, sowie der Blutflußgeschwindigkeit in der A. mesenterica superior. Der Gefäßwiderstand wurde durch die Ganglienblockade nicht signifikant verändert. Muskarinerge Rezeptorblockade (Gruppe 6) führte zu einem Anstieg der Herzfrequenz,



während es unter  $\beta_1$ -adrenerger Rezeptorblockade (Gruppe 5) zu einem Abfall der Herzfrequenz kam.

Da der PVN neben dem nucleus supraopticus der Syntheseort für Vasopressin ist, muß damit gerechnet werden, daß es während elektrischer Stimulation dieses Kerngebiets im Hypothalamus zur Freisetzung von Vasopressin kommen kann. Vasopressin führt über  $V_1$ -vasopressinerge Rezeptoren zu einer Vasokonstriktion von Arterien und Arteriolen und erhöht so den Gefäßwiderstand und den Blutdruck. Außerdem kann es über  $V_2$ -vasopressinerge Rezeptoren zu einer vermehrten renalen Wasserrückresorption kommen. Es war daher notwendig, hämodynamische Effekte einer möglicherweise einsetzenden Vasopressinwirkung zu erfassen. Dazu wurde jeder Stimulationssequenz des PVN eine 3-minütige Kontrollregistrierung ohne Stimulation des PVN vorangestellt. Außerdem erfolgte eine Kontrollregistrierung am Ende des Experiments. Die Veränderungen der hämodynamischen Parameter über den Zeitverlauf des experimentellen Protokolls während diesen Kontrollregistrierungen sind in Abbildung 4.1 dargestellt.

Nach der PVN Stimulation mit 1.5 Hz und am Ende des Protokolls waren die Kontrollwerte des Gefäßwiderstands in der Mesenterialarterie sowie der arterielle Blutdruck im Vergleich zu den Kontrollwerten am Anfang des Protokolls signifikant erhöht. Die Herzfrequenz und die sympathische Nervenaktivität des N. splanchnicus major waren dagegen im Vergleich zu früheren Kontrollregistrierungen reduziert. Es ist möglich, daß es durch die PVN Stimulationen zur Freisetzung von Vasopressin kam, welche zu einer Vasokonstriktion und damit zur Zunahme des Gefäßwiderstands und des Blutdrucks führte. Die Abnahme der Herzfrequenz und der sympathischen Nervenaktivität können als sekundäre Effekte, die über den Barorezeptorenreflex vermittelt sind, interpretiert werden.

#### **4.1.2 Effekte der sympathischen Nervenstimulation**

Eine Originalregistrierung des Blutdrucks, der Herzfrequenz und der Blutflußgeschwindigkeit in der Mesenterialarterie während Kontrollbedingungen (keine Stimulation) und während Stimulation des sympathischen N. splanchnicus major mit einer Stimulationsfrequenz von 0.5 Hz ist in Abbildung 4.2 wiedergegeben.

Stimulation des N. splanchnicus major mit einer Frequenz von 0.5 Hz führte zu deutlichen Oszillationen der Blutflußgeschwindigkeit in der Mesenterialarterie, die in synchrone Schwankungen des arteriellen Blutdrucks übertragen wurden. Bei höheren Stimulationsfrequenzen als 0.5 Hz wurde die Amplitude der stimulationsabhängigen Oszillationen im Blutfluß und im Blutdruck zunehmen kleiner und waren bei Stimulationsfrequenzen ober-

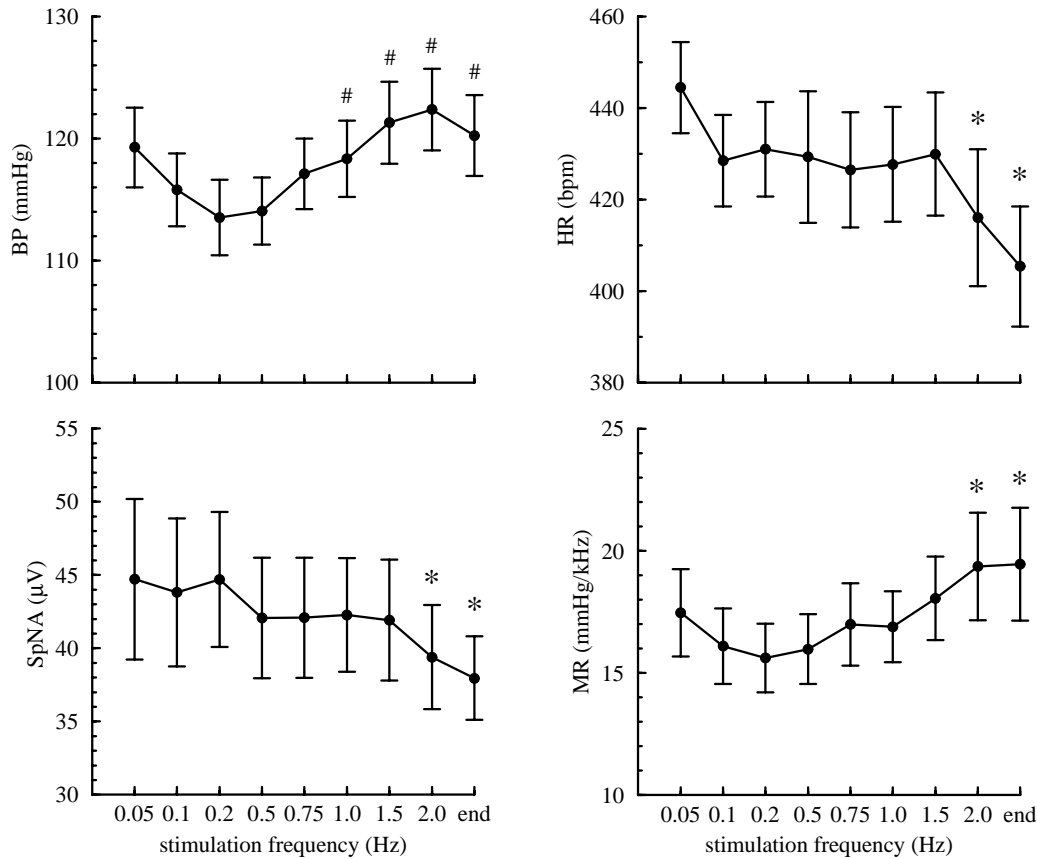


Abbildung 4.1: Zeitverlauf des mittleren Blutdrucks (BP), der Herzfrequenz (HR), der sympathischen Nervenaktivität des N. splanchnicus major (SpNA) und des mesenterialen Gefäßwiderstandes (MR) während den Kontrollregistrierungen (ohne PVN Stimulation) die den jeweiligen Stimulationssequenzen vorangestellt waren und am Ende des Protokolls. Gegen Ende des Protokolls kam es zu einer Vasokonstriktion, die möglicherweise auf eine Vasopressinfreisetzung aus dem PVN zurückzuführen ist. \*  $p < 0.05$  versus erste Kontrollregistrierung, #  $p < 0.05$  versus Kontrollregistrierung vor PVN Stimulation mit 0.2 Hz.

halb von 1.0 Hz nicht mehr nachweisbar. Die Effekte einer rhythmischen Stimulation peripherer sympathischer Nerven können in tonische und dynamische Wirkungen unterteilt werden. Bei niederen Stimulationsfrequenzen folgt der Gefäßwiderstand der vom stimulierten Nerven innervierten Arterien dem Rhythmus der Nervenstimulation (siehe Abbildung 4.2). Dieses Antwortverhalten wird als dynamisch bezeichnet. Bei zunehmenden Stimulationsfrequenzen kommt es jedoch zu einer tonischen Vasokonstriktion der Mesenterialgefäße, die sich in einer Abnahme der Blutflußgeschwindigkeit und einer Zunahme des arteriellen Blutdrucks widerspiegelt. Dieser tonische Ef-

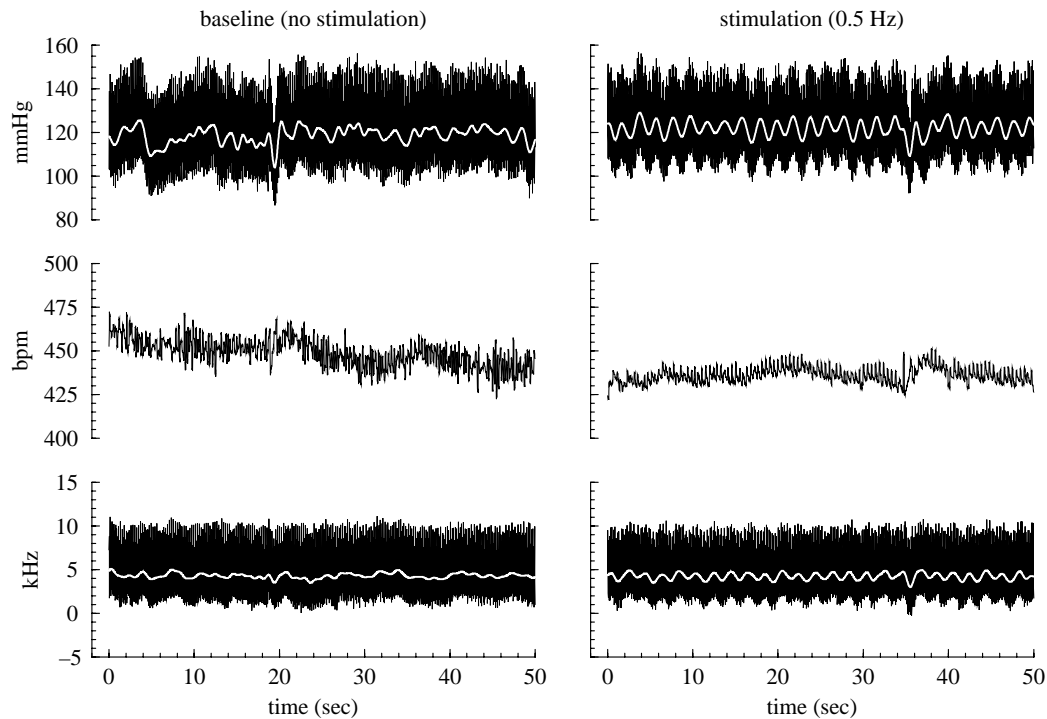


Abbildung 4.2: Originalregistrierung des Blutdrucks (oben), der Herzfrequenz (Mitte) und der Blutflußgeschwindigkeit in der Mesenterialarterie (unten) während Kontrollbedingungen (keine Stimulation, links) und während Stimulation des N. splanchnicus major mit einer Stimulationsfrequenz von 0.5 Hz ( $\tau=2$  s). Die weißen Linien (oben und unten) repräsentieren die Mittelwerte. Eine starke Oszillation mit einer Wellenlänge von 2 s ist im Blutdrucksignal und im Signal der Blutflußgeschwindigkeit der Mesenterialarterie während Stimulation des sympathischen Nervs deutlich zu erkennen.

fekt kommt dadurch zustande, daß die Zeit bis zum Eintreffen des nächsten sympathischen Stimulus nicht ausreicht, um eine Erschlaffung der glatten Gefäßmuskulatur zu erlauben. Der nächste sympathische Reiz erfolgt also zu einem Zeitpunkt, zu dem die Gefäßmuskulatur noch kontrahiert ist.

### Tonische Effekte

Abbildung 4.3 zeigt die Änderungen des Blutdrucks, der Herzfrequenz, der Blutflußgeschwindigkeit und des Gefäßwiderstandes der Mesenterialarterie während Stimulation des N. splanchnicus major mit ansteigenden Stimulationsfrequenzen.

Während Kontrollbedingungen (12 Std. postoperativ) bewirkten Stimu-

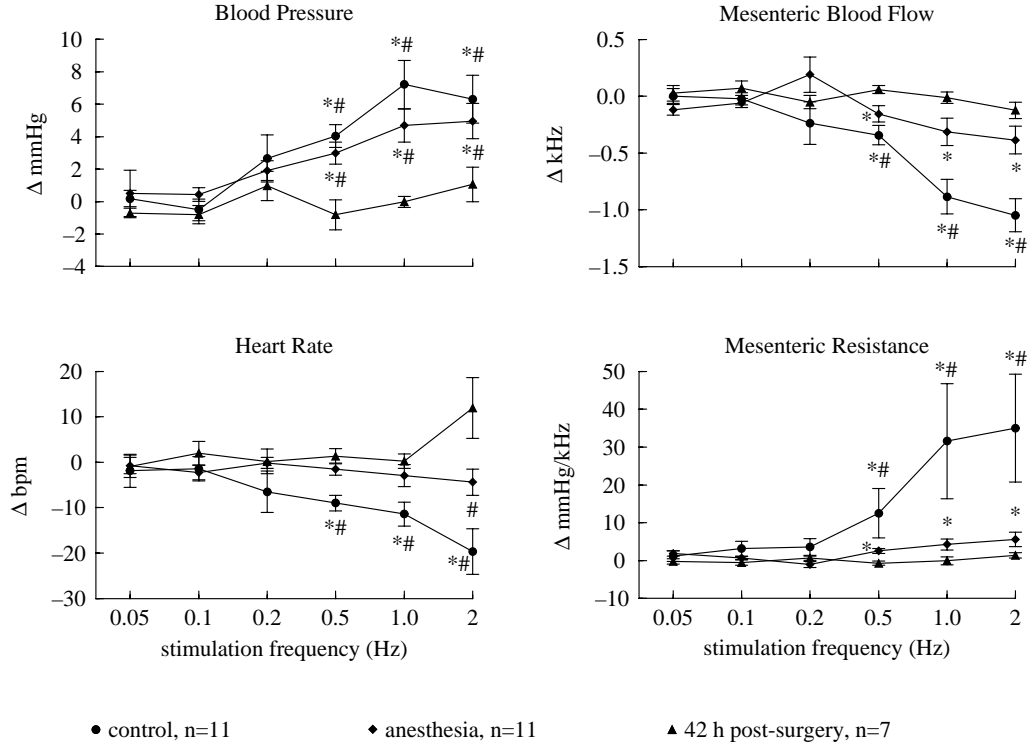


Abbildung 4.3: Änderungen des Blutdrucks (links oben), der Herzfrequenz (links unten), der Blutflußgeschwindigkeit (rechts oben) und des Gefäßwiderstandes (rechts unten) der Mesenterialarterie während Stimulation des N. splanchnicus major mit steigenden Stimulationsfrequenzen. ● Kontrollbedingungen 12 Std. postoperativ (wacher Zustand), ◆ Barbituratnarkose (14 Std. postoperativ), ▲ Kontrollbedingungen 42 Std. postoperativ (wacher Zustand, Nerv degeneriert), \*  $p < 0.05$  Kontrollregistrierung ohne Stimulation versus Registrierung während Stimulation, #  $p < 0.05$  versus 42 Std. postoperativ.

lationsfrequenzen von 0.5 Hz und höher einen Anstieg des mesenterialen Gefäßwiderstands und daher einen Abfall der Blutflußgeschwindigkeit in diesem Gefäßbett. Dieser Anstieg des Gefäßwiderstandes im Mesenterialgebiet war von einem Anstieg des arteriellen Blutdrucks und einem Abfall der Herzfrequenz begleitet. Während Barbituratnarkose waren die tonischen Effekte der Nervenstimulation auf den Gefäßwiderstand und die Blutflußgeschwindigkeit in der Mesenterialarterie im Vergleich zu wachen Kontrollbedingungen (12 Std. postoperativ) deutlich abgeschwächt. Elektrische Stimulation des N. splanchnicus major 42 Std. postoperativ, also zu einem Zeitpunkt an dem der Nerv bereits degeneriert war, bewirkte keine Veränderungen der gemessenen hämodynamischen Parameter. Unspezifische Effekte in Folge sensorischer Reize, ausgelöst durch die elektrische Nervenstimulation können damit

weitestgehend ausgeschlossen werden.

## **Dynamische Effekte**

Die dynamischen Effekte der elektrischen Stimulation des N. splanchnicus major können mit den Methoden der Powerspektralanalyse beschrieben werden. Die Powerspektren des arteriellen Blutdrucks und des mesenterialen Gefäßwiderstandes für die sechs Stimulationsfrequenzen sowie die jeweiligen Kontrollregistrierungen ohne Stimulation sind in Abbildung 4.4 während Kontrollbedingungen zum Zeitpunkt 12 Std. postoperativ dargestellt. Die Höhenliniendiagramme entsprechen den gemittelten Powerspektren aller Tiere.

Sympathische Nervenstimulation bewirkte bei Stimulationsfrequenzen bis einschließlich 1.0 Hz, nicht aber bei 2.0 Hz, eine rhythmische Schwankung des Gefäßwiderstandes bei der jeweiligen Stimulationsfrequenz. Diese rhythmischen Schwankungen erscheinen in Abbildung 4.4 (unten) als klar abgegrenzte Peaks hoher spektraler Leistungsdichte bei den einzelnen Stimulationsfrequenzen. Stimulationsbedingte Oszillationen des Gefäßwiderstandes im Frequenzbereich von 0.1 bis 1.0 Hz wurden auf den Blutdruck übertragen. Allerdings war die dynamische Antwort des Blutdrucks auf die Nervenstimulation bei Stimulation mit 1.0 Hz bereits so stark abgeschwächt, daß der entsprechende Peak im Spektrum des Blutdrucks (Abbildung 4.4, oben) bei der vorliegenden Skalierung nicht mehr wahrgenommen werden kann.

In Abbildung 4.5 sind die Änderungen der spektralen Leistungsdichte durch die sechs verschiedenen Stimulationsfrequenzen und den drei Versuchsbedingungen (Kontrolle, Narkose, degenerierter Nerv) zusammengefaßt.

Während Kontrollbedingungen 12 Std. postoperativ führten sympathische Nervenstimulationen mit Frequenzen von 0.05 bis 1.0 Hz zu entsprechenden rhythmischen Oszillationen des mesenterialen Gefäßwiderstandes und der Blutflußgeschwindigkeit, die sich in einer Zunahme der spektralen Leistungsdichte (power) bei den jeweiligen Stimulationsfrequenzen zeigte. Außer für die langsamste Stimulationsfrequenz von 0.05 Hz wurden die Oszillationen des Gefäßwiderstandes auf den Blutdruck übertragen. Stimulation des N. splanchnicus majors führte bei keiner Stimulationsfrequenz zu einer dynamischen Antwort der Herzfrequenz.

Während Narkose kam es lediglich bei Stimulationsfrequenzen von 0.2 und 0.5 Hz zu dynamischen Antworten des mesenterialen Gefäßwiderstandes oder der Blutflußgeschwindigkeit. Nur diese beiden Stimulationsfrequenzen erzeugten eine dynamische Antwort im Blutdrucksignal. Die Herzfrequenz zeigte wie im wachen Zustand auch unter Narkose bei keiner Stimulationsfrequenz eine dynamische Antwort. Generell kann man sagen, daß die dyna-

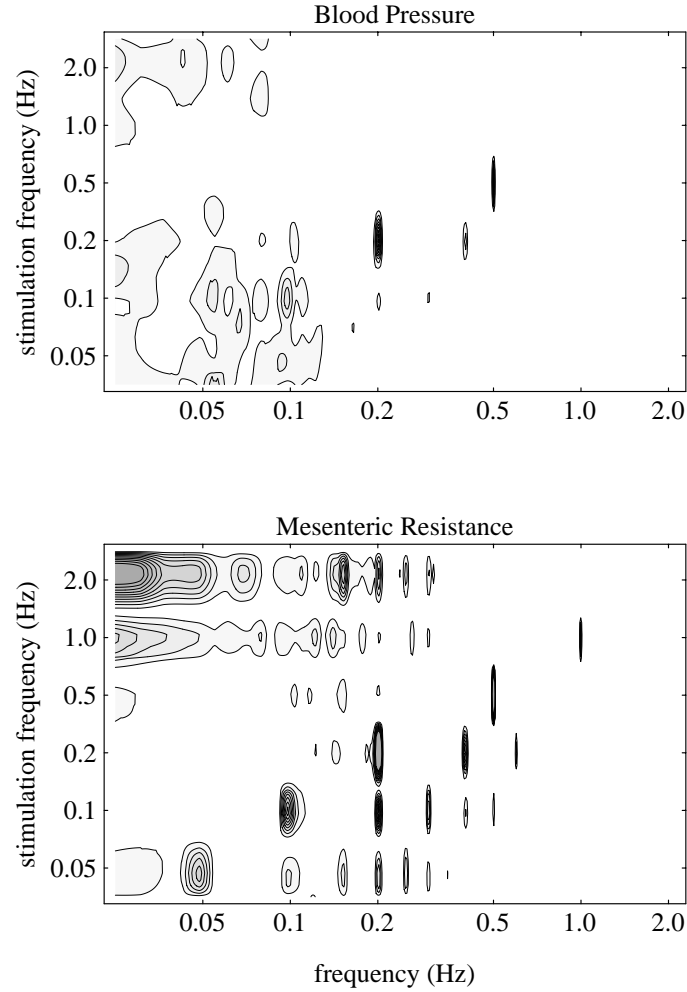


Abbildung 4.4: Höhenliniendiagramme der Powerspektren des arteriellen Blutdrucks (oben) und des Gefäßwiderstandes der Mesenterialarterie (unten). Die Signale wurden zum Zeitpunkt 12 Std. postoperativ während Stimulation des N. splanchnicus major mit steigenden Stimulationsfrequenzen (y-Achse) bei wachen Ratten registriert. Die Höhenlinien entsprechen der spektralen Leistungsdichte (power) die über alle 11 Tiere der Studie gemittelt wurde. Die Frequenzachse (x-Achse) ist in einem logarithmischen Maßstab dargestellt.

mische Antwort auf die sympathische Nervenstimulation bei narkotisierten Ratten im Vergleich zu wachen Ratten deutlich abgeschwächt war. Der Frequenzbereich der dynamischen Antwort war unter Narkose im Vergleich zum

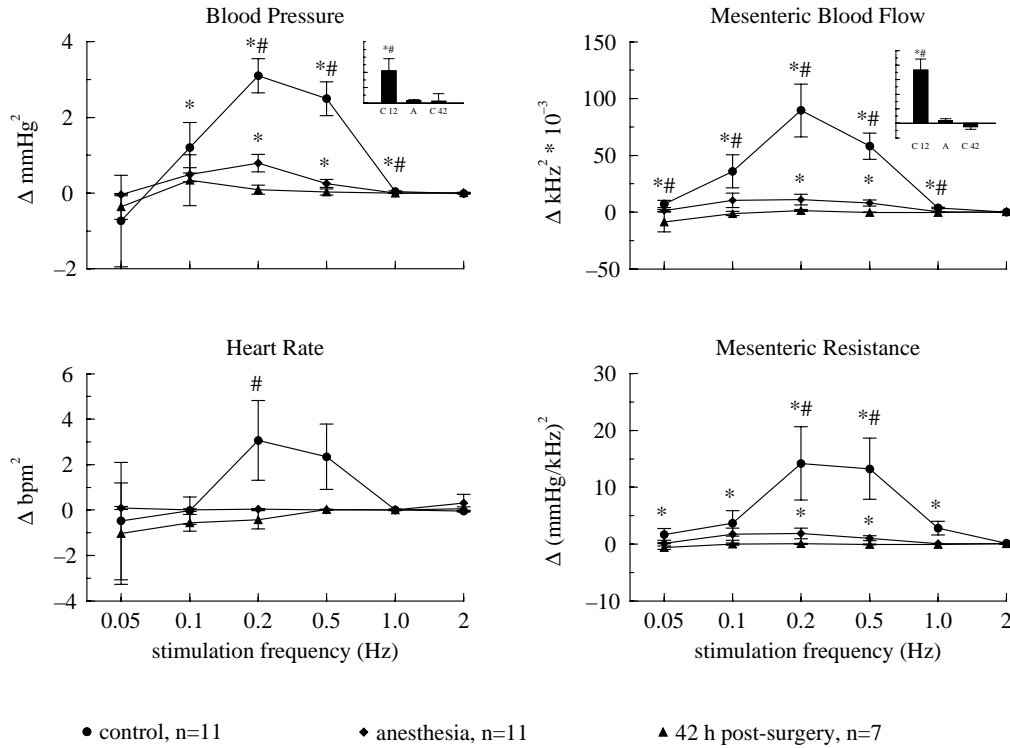


Abbildung 4.5: Änderungen der spektralen Leistungsdichte des Blutdrucks (links oben), der Herzfrequenz (links unten), der Blutflußgeschwindigkeit (rechts oben) und des Gefäßwiderstandes (rechts unten) der Mesenterialarterie während Stimulation des N. splanchnicus major mit steigenden Stimulationsfrequenzen. Die Leistungsdichte wurde als Fläche unter der Kurve der Powerspektren bei den jeweiligen Stimulationsfrequenzen berechnet. Dargestellt sind die Differenzen der Leistungsdichte während Stimulation und der jeweiligen vorausgehenden Kontrollregistrierung ohne Stimulation. ● Kontrollbedingungen 12 Std. postoperativ (wacher Zustand), ♦ Barbituratnarkose (14 Std. postoperativ), ▲ Kontrollbedingungen 42 Std. postoperativ (wacher Zustand, Nerv degeneriert), \*  $p < 0.05$  Kontrollregistrierung ohne Stimulation versus Registrierung während Stimulation, #  $p < 0.05$  versus 42 Std. postoperativ. Die eingesetzten Balkendiagramme zeigen die Änderungen in der Leistungsdichte durch die sympathische Nervenstimulation mit 1.0 Hz.

wachen Zustand also auf ein schmäleres Frequenzband beschränkt und die Stärke der dynamischen Antwort war deutlich reduziert.

Sympathische Nervenstimulation 42 Std. postoperativ, also zu einem Zeitpunkt an dem der Nerv bereits degeneriert war, führte bei keiner Stimulationsfrequenz zu einer dynamischen Antwort in den gemessenen Parametern. Das Einbringen elektrischer Reizen in die Abdominalhöhle wacher Ratten

führt also bei den hier verwendeten Spannungen zu keinen mit der Methode der Powerspektralanalyse erkennbaren hämodynamischen Effekten.

### 4.1.3 Effekte der Stimulation des PVN

Im Unterschied zur direkten Stimulation des N. splanchnicus major war es im Falle der Stimulation des PVN möglich, neben dem Blutdruck, der Herzfrequenz und der Blutflußgeschwindigkeit in der Mesenterialarterie auch die Aktivität des N. splanchnicus major zu erfassen. Eine Originalregistrierung während Kontrollbedingungen und während elektrischer Stimulation des PVN mit einer Stimulationsfrequenz von 0.5 Hz ist in Abbildung 4.6 dargestellt.

Periodische Stimulationen des PVN bewirkten synchrone Aktivierungen des peripheren Sympathikus, die zu periodischen Schwankungen des Blutdrucks, der Herzfrequenz und der Blutflußgeschwindigkeit in der Mesenterialarterie führten. Wie bei der direkten Stimulation des peripheren sympathischen Nervs konnte auch bei Stimulation des PVN eine tonische von einer dynamischen Antwort des Gefäßwiderstandes in der Mesenterialarterie unterschieden werden. Dies zeigte sich in einer Abnahme der Amplitude der stimulationsbedingten Oszillationen im Blutdruck- und Blutflußsignal bei Stimulationsfrequenzen oberhalb von 0.5 Hz. Diese Abnahme der Amplitude der stimulationsbedingten Schwankungen war von einer tonischen Vasokonstriktion, die sich in einem Anstieg des Blutdrucks und einem Abfall des Blutflusses manifestierte, begleitet. Im Gegensatz zum Blutdruck- und Blutflußsignal nahm die oszillatorische (dynamische) Komponente in den Signalen der Herzfrequenz und der Aktivität des N. splanchnicus major bei Stimulationsfrequenzen oberhalb von 0.5 Hz nicht ab. Es kam jedoch bei höheren Stimulationsfrequenzen zusätzlich zur ungedämpften dynamischen Antwort zu einem tonischen Anstieg der sympathischen Nervenaktivität des N. splanchnicus major und der Herzfrequenz.

#### **Tonische Effekte**

Die tonischen Effekte der Stimulation des PVN auf den Blutdruck, die sympathische Nervenaktivität des N. splanchnicus major, sowie auf die Blutflußgeschwindigkeit und den Gefäßwiderstand der A. mesenterica superior sind in Abbildung 4.7 dargestellt. Die Differenzen der Mittelwerte der Signale während Stimulation und während der Kontrollregistrierung vor der Stimulation mit den jeweiligen Stimulationsfrequenzen sind dargestellt.

Mit steigenden Stimulationsfrequenzen kam es zu einem Anstieg der sympathischen Nervenaktivität, die bei einer Stimulationsfrequenz von 1.5 Hz



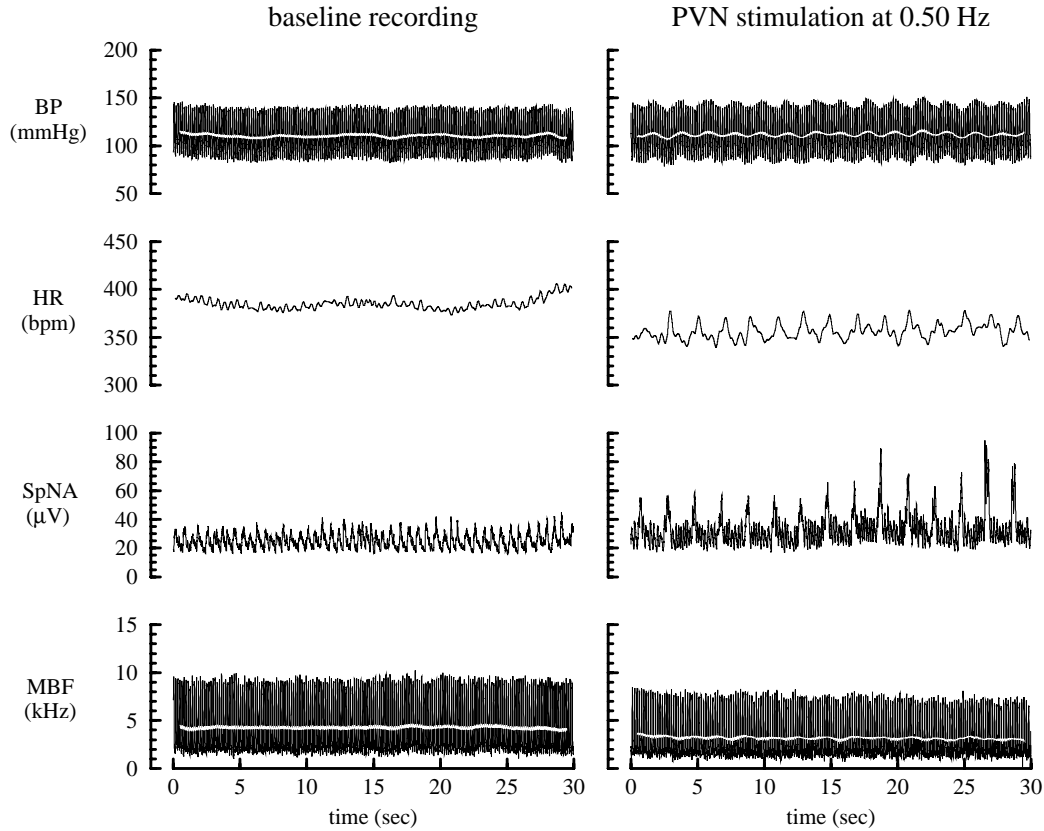


Abbildung 4.6: Originalregistrierung des Blutdrucks (BP), der Herzfrequenz (HR), der sympathischen Aktivität des N. splanchnicus major (SpNA) und der Blutflußgeschwindigkeit in der Mesenterialarterie (MBF) während Kontrollbedingungen (keine Stimulation, links) und während Stimulation des PVN mit einer Stimulationsfrequenz von 0.5 Hz ( $\tau=2$  s). Die weißen Linien (BP und MBF) repräsentieren die Mittelwerte. Eine starke Oszillation mit einer Wellenlänge von 2 s ist während Stimulation des PVN in allen Signalen deutlich erkennbar.

statistische Signifikanz erreichte. Ganglienblockade mit Hexamethonium konnte diesen Anstieg der sympathischen Nervenaktivität nicht verhindern, möglicherweise weil im N. splanchnicus major an der Stelle der Ableitelektrode neben postganglionären auch präganglionäre Nervenfasern verlaufen oder weil die Ganglienblockade nicht vollständig war. Die letzte Möglichkeit ist eher unwahrscheinlich, da die Ganglienblockade durch das Fehlen einer Herzfrequenzantwort auf intravenös appliziertes Natrium-Nitroprussid überprüft wurde. Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß die ganglionäre Übertragung zum kardialen Sympathikus gut blockiert war, während die ganglionäre sympathische Übertragung zum Mesenterialgebiet unvollständig war. Bei Sti-

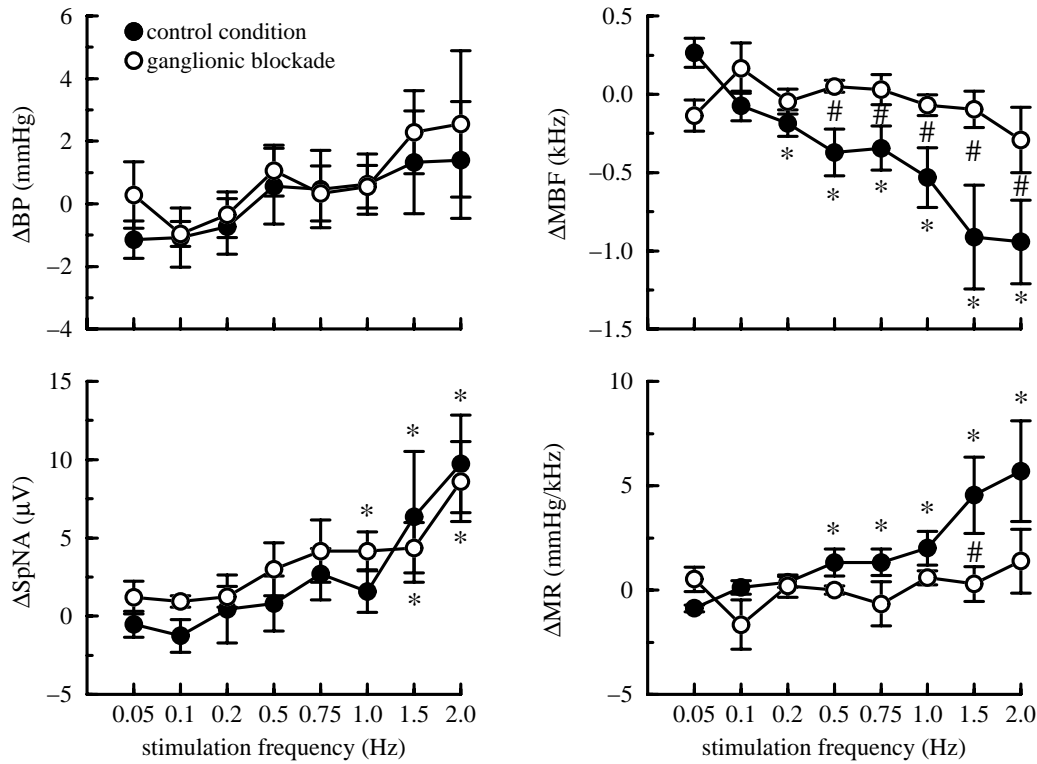


Abbildung 4.7: Hämodynamische Effekte der Stimulation des PVN mit steigenden Stimulationsfrequenzen auf den Blutdruck (BP), die sympathische Nervenaktivität des N. splanchnicus major (SpNA), die Blutflußgeschwindigkeit (MBF) und den Gefäßwiderstand in der Mesenterialarterie (MR) während Kontrollbedingungen (geschlossene Kreise) und während Ganglienblockade (offene Kreise). Die Differenzen zwischen den Mittelwerten der drei-minütigen Registrierung während PVN Stimulation und während der Kontrollregistrierung vor der jeweiligen Stimulation sind dargestellt. \*  $p < 0.05$  Absolute Mittelwerte während PVN Stimulation versus absolute Werte während der Kontrollregistrierung, #  $p < 0.05$  Differenzen während Kontrollbedingungen (NaCl Infusion) versus Differenzen während Ganglienblockade (Hexamethonium Infusion).

mulationsfrequenzen oberhalb von 0.5 Hz kam es zu einer tonischen Vasokonstriktion im Gefäßbett der Mesenterialarterie, die sich in einem Anstieg des Gefäßwiderstandes und einem Abfall der Blutflußgeschwindigkeit zeigte. Diese tonische Vasokonstriktion konnte durch Ganglienblockade verhindert werden. Dies zeigt, daß die stimulationsabhängige tonische Vasokonstriktion durch einen direkten sympathischen Effekt vermittelt wurde. Der arterielle Blutdruck stieg während PVN Stimulation nicht signifikant an.

## Dynamische Effekte

Bei niederen Stimulationsfrequenzen ( $\leq 0.5$  Hz) waren in allen registrierten Parametern deutliche stimulationssynchrone Oszillationen nachweisbar (Abbildung 4.6). Diese Oszillationen wurden mit der Methode der Powerspektralanalyse untersucht. Die Powerspektren des Blutdrucks, der sympathischen Nervenaktivität des N. splanchnicus majors, sowie der Blutflußgeschwindigkeit und des Gefäßwiderstandes der Mesenterialarterie sind in Form von Höhenliniendiagrammen in Abbildung 4.8 graphisch aufbereitet während die quantitative Auswertung der Powerspektren in Abbildung 4.9 dargestellt ist. Für die Abbildung 4.8 wurden die 17 Powerspektren (8 Stimulationsfrequenzen und 9 Kontrollregistrierungen) aller zehn Ratten gemittelt und die gemittelten Werte zwei-dimensional interpoliert. Die interpolierten Werte wurden dann als Höhenliniendiagramme dargestellt.

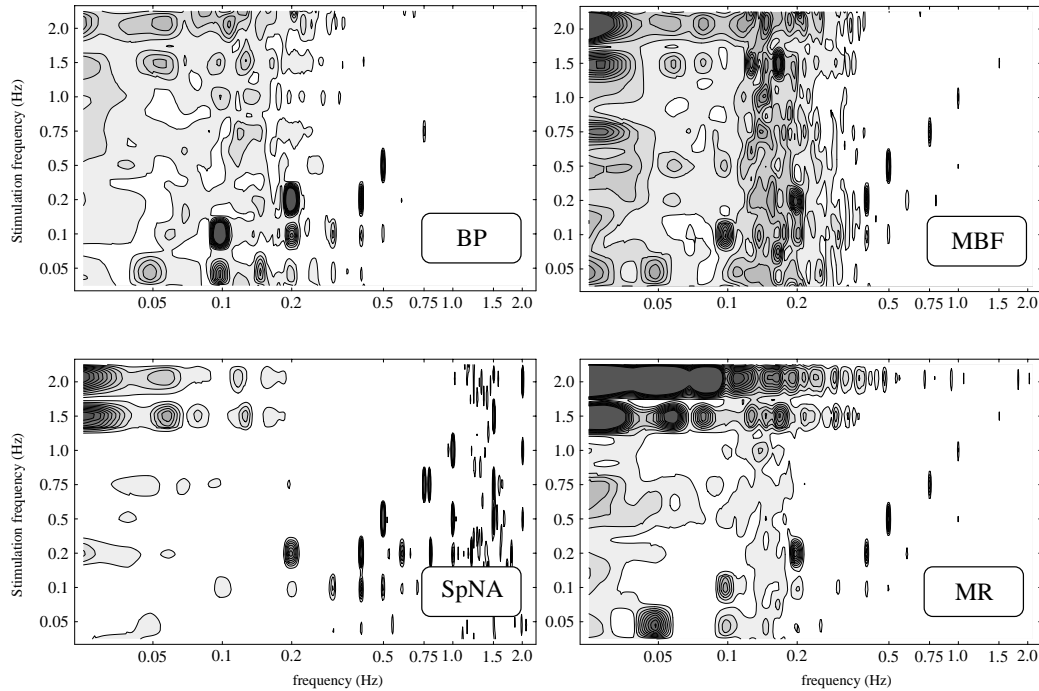


Abbildung 4.8: Höhenliniendiagramme der Powerspektren des arteriellen Blutdrucks (BP), der sympathischen Nervenaktivität des N. splanchnicus majors (SpNA), der Blutflußgeschwindigkeit (MBF) und des Gefäßwiderstandes der Mesenterialarterie (MR) während elektrischer Stimulation des PVN mit steigenden Stimulationsfrequenzen (y-Achse). Die Höhenlinien entsprechen den gemittelten Powerspektren aller zehn Ratten. Die Frequenzachse (x-Achse) ist in einem logarithmischen Maßstab dargestellt.

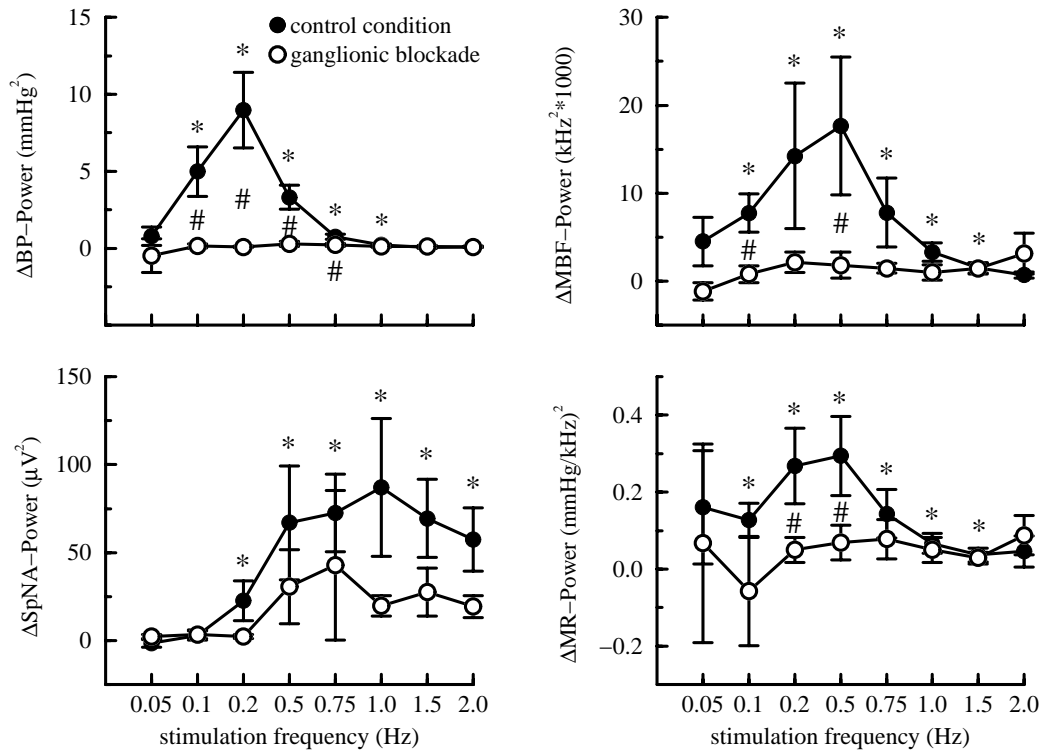


Abbildung 4.9: Differenzen der spektralen Leistungsdichte des arteriellen Blutdrucks (BP), der sympathischen Nervenaktivität des N. splanchnicus majors (SpNA), sowie der Blutflußgeschwindigkeit (MBF) und des Gefäßwiderstandes in der Mesenterialarterie (MR) während PVN Stimulation und der jeweiligen Kontrollregistrierung ohne Stimulation. Dargestellt sind die Differenzen während Kontrollbedingungen (NaCl Infusion, geschlossene Kreise) und während Ganglienblockade (Hexamethonium Infusion, offene Kreise). Die spektrale Leistungsdichte wurde als Fläche unter der Kurve des Spektrums bei der jeweiligen Stimulationsfrequenz berechnet. \*  $p < 0.05$  absolute Werte während Stimulation versus absolute Werte während der vorausgehenden Kontrollregistrierung, #  $p < 0.05$  Differenzen während Kontrollbedingungen versus Differenzen während Ganglienblockade.

Die Powerspektren der sympathischen Nervenaktivität zeigen deutliche Peaks bei allen Stimulationsfrequenzen von 0.05 bis 2.0 Hz. Die stärksten Antworten waren bei Stimulationsfrequenzen zwischen 0.5 und 2.0 Hz zu sehen. Diese stimulationsbedingten rhythmischen sympathischen Aktivierungen bewirkten periodische Vasokonstriktionen im Gefäßbett der Mesenterialarterie. Dies zeigt sich in den deutlichen Peaks der Powerspektren der mesenterialen Blutflußgeschwindigkeit und des mesenterialen Gefäßwiderstandes bei den jeweiligen Stimulationsfrequenzen. Obwohl die größten vaskulären Effekte der PVN Stimulation im Frequenzband von 0.1 bis 0.75 Hz gefunden wurden, waren auch bei 1.0 und 1.5 Hz kleinere Peaks mit signifikant

erhöhter Leistungsdichte in den Spektren der Blutflußgeschwindigkeit und des Gefäßwiderstandes zu erkennen. Die Oszillationen des Gefäßwiderstandes wurden auch in Oszillationen des arteriellen Blutdrucks übertragen. Die stärksten Effekte auf den Blutdruck waren bei Stimulationsfrequenzen von 0.1 bis 0.5 Hz nachweisbar. Ganglienblockade mit Hexamethonium führte zu einer vollständigen Blockade aller dynamischen vaskulären Effekte der PVN Stimulation. Dies kann dahingehend interpretiert werden, daß die dynamischen vaskulären Effekte der PVN Stimulation auf direkte sympathische Wirkungen zurückzuführen sind.

### **Transferfunktion der sympathischen Übertragung auf den mesenterialen Gefäßwiderstand**

Die direkte Registrierung der peripheren sympathischen Nervenaktivität zusammen mit der Blutflußgeschwindigkeit in der Mesenterialarterie und dem arteriellen Blutdruck ermöglichte die Berechnung der Kohärenzfunktion und der Übertragungsfunktion zwischen der sympathischen Nervenaktivität und dem Gefäßwiderstand der Mesenterialarterie. Die Ergebnisse dieser Auswertung sind in Abbildung 4.10 gezeigt.

Während Kontrollbedingungen (NaCl Infusion) lag zwischen sympathischer Nervenaktivität und Gefäßwiderstand sowohl im mittelfrequenten (0.2-0.75 Hz) als auch im hochfrequenten Frequenzband (0.75-1.5 Hz) eine große Kohärenz ( $>0.5$ ) vor. Während Ganglienblockade war eine große Kohärenz jedoch nur im hochfrequenten Frequenzband (0.75-1.5 Hz) nachweisbar. Die Verstärkung der Transferfunktion war während Kontrollbedingungen (NaCl Infusion) im mittelfrequenten Frequenzband (0.2-0.75 Hz) größer als im hochfrequenten Frequenzband (0.75-1.5 Hz). Ganglienblockade reduzierte die Verstärkung der Transferfunktion im mittelfrequenten Frequenzband, während das hochfrequente Frequenzband durch die Ganglienblockade unbeeinflusst blieb. Diese Befunde können dahingehend gedeutet werden, daß die große Kohärenz im hochfrequenten Frequenzband, die auch bei Ganglienblockade erhalten blieb (Kohärenz= $0.51 \pm 0.08$  bei Stimulationsfrequenz von 1.0 Hz), keine direkte Übertragung des Sympathikus auf den Gefäßwiderstand bedeutet, sondern vielmehr ein Epiphänomen in den beiden Signalen der Nervenaktivität und des Gefäßwiderstands widerspiegelt. Der Ursprung dieser hochfrequenten Frequenzanteile in beiden Signalen ist wahrscheinlich die mechanische Atemtätigkeit. Die große Kohärenz und die hohe Verstärkung der Transferfunktion im mittelfrequenten Frequenzbereich, die durch Ganglienblockade reduziert werden konnten, zeigen, daß die sympathische Übertragung in diesem Frequenzband (0.2-0.75 Hz) am effektivsten ist.

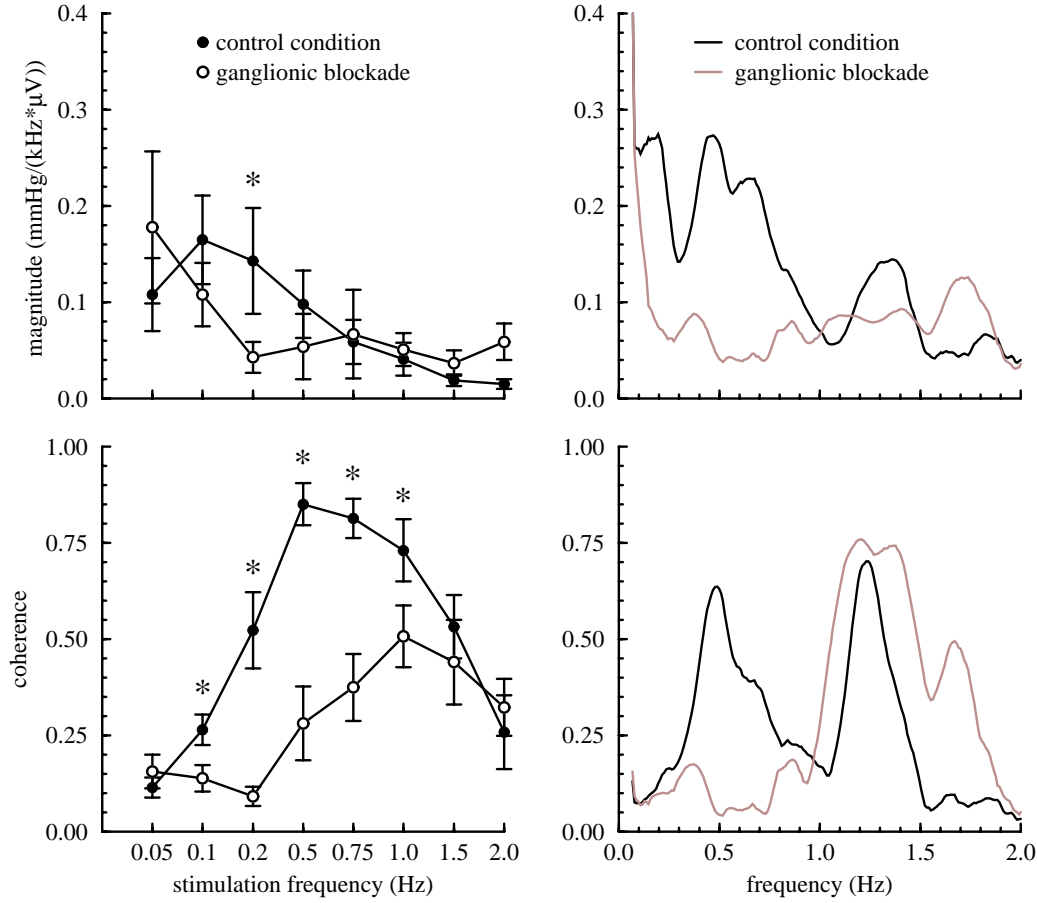


Abbildung 4.10: Verstärkung der Transferfunktion (oben) und Kohärenzfunktion (unten) zwischen der sympathischen Aktivität des N. splanchnicus major und dem mesenterialen Gefäßwiderstand während Kontrollbedingungen (NaCl Infusion) und während Ganglienblockade (Hexamethonium Infusion). Links: Flächen unter der Kurve der Verstärkung der Transferfunktion (oben) und der Kohärenzfunktion (unten) während PVN Stimulation im Frequenzband von  $\pm 0.024$  Hz um die jeweilige Stimulationsfrequenz. Rechts: Verstärkung der Transferfunktion (oben) und Kohärenzfunktion (unten) einer repräsentativen Ratte während der ersten Kontrollregistrierung vor der ersten Stimulation des PVN. \*  $p < 0.05$  Kontrollbedingungen versus Ganglienblockade).

## 4.2 Sympathische Übertragung auf Hautgefäße beim Menschen

In diesem Teilprojekt wurde die sympathische Übertragung auf Hautgefäße bei 12 Probanden untersucht. Hierfür wurden sympathische Hautfasern des

N. medianus via Mikroneurographienadeln elektrisch stimuliert und die vasculären Effekte der Stimulation im innervierten Hautareal mit der Technik der Laser-Doppler Flußmessung registriert.

#### **4.2.1 Hämodynamische Ausgangsbedingungen**

Während des experimentellen Protokolls lagen die Probanden über einen Zeitraum von ungefähr zwei Stunden ruhig auf einer Untersuchungsfläche. Da dieses Protokoll möglicherweise einen gewissen Grad an Immobilisationsstress beinhaltet, dessen Intensität über den Zeitverlauf des Protokolls zunehmen könnte, haben wir den Zeitverlauf der hämodynamischen Parameter untersucht. Der Zeitverlauf des Blutdrucks, der Herzfrequenz, sowie der Hautdurchblutung der ipsilateralen und kontralateralen Hand während den Kontrollregistrierungen ohne Stimulation sind in Abbildung 4.11 dargestellt.

Der mittlere Blutdruck stieg im Verlauf des Protokolls von  $89 \pm 3$  mmHg am Anfang des Experiments auf Werte von  $97 \pm 3$  mmHg während der letzten Kontrollregistrierung am Ende des Protokolls. Die Herzfrequenz betrug am Anfang des Protokolls  $61 \pm 3$  bpm und änderte sich im Zeitverlauf des Experiments nicht signifikant. Ebenso blieb die Hautdurchblutung der ipsilateralen (stimulierten) Hand während des Protokolls konstant, während die Hautdurchblutung der kontralateralen (nicht stimulierten) Hand im Verlauf des Protokolls stetig abnahm.

#### **4.2.2 Hämodynamische Effekte der Stimulation des N. medianus**

Abbildung 4.12 zeigt die hämodynamischen Effekte der Stimulation des N. medianus für alle sieben Stimulationsfrequenzen. Um Veränderungen der basalen hämodynamischen Parameter über den Zeitraum des experimentellen Protokolls zu berücksichtigen, wurden die Mittelwerte der Registrierungen während Stimulation des N. medianus mit den Mittelwerten der Kontrollregistrierungen (ohne Stimulation), die vor jeder einzelnen Stimulationssequenz aufgezeichnet wurden, verglichen.

Elektrische Stimulation des N. medianus führte nur zu einer minimalen Änderung des arteriellen Blutdrucks in der Größenordnung von 3 mmHg. Auch die Herzfrequenz wurde durch die Stimulation nicht signifikant beeinflusst. Die Hautdurchblutung im stimulierten Hautareal wurde durch die Medianusstimulation bei Stimulationsfrequenzen oberhalb von 0.05 Hz signifikant reduziert. Dies zeigt, daß bei diesen Stimulationsfrequenzen eine tonische Vasokonstriktion einsetzte. In der kontralateralen, nicht stimulierten

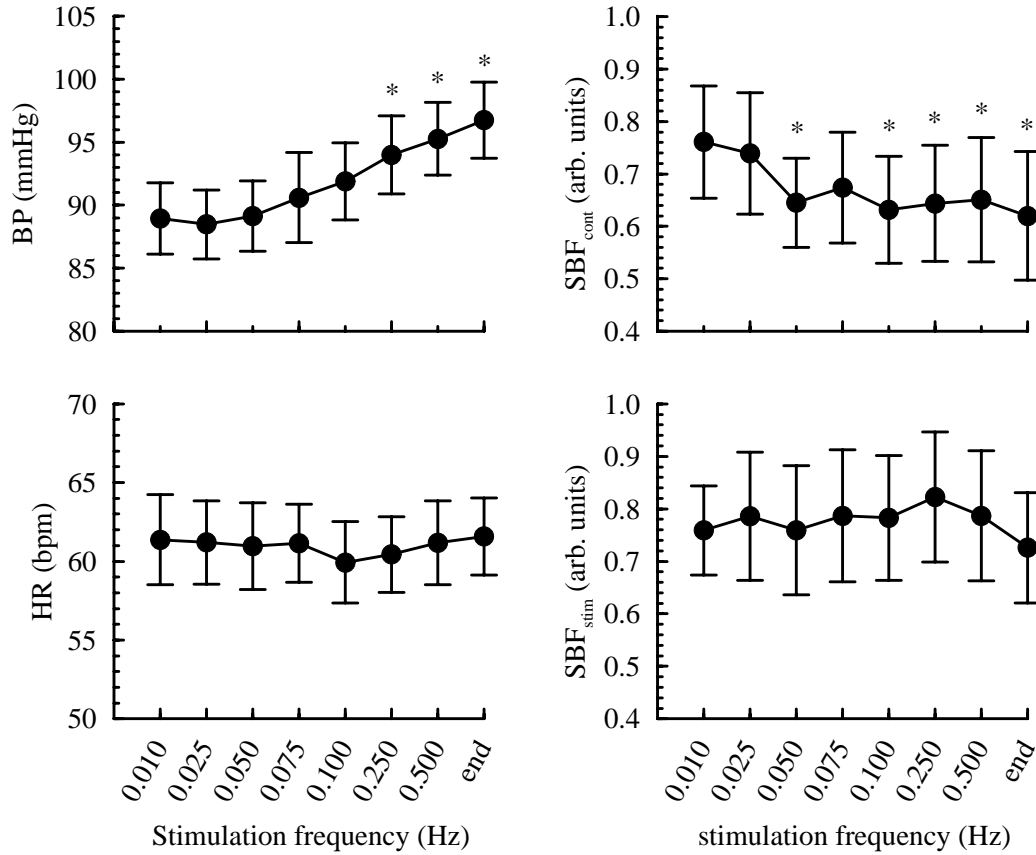


Abbildung 4.11: Zeitverlauf des Blutdrucks (BP), der Herzfrequenz (HR) und der Hautdurchblutung der ipsilateralen ( $SBF_{stim}$ , stimulierten) und kontralateralen ( $SBF_{cont}$  nicht stimulierten) Hand während den Kontrollregistrierungen, die jeder Stimulationsperiode vorangestellt waren. \*  $p < 0.05$  versus erster Kontrollregistrierung am Anfang des Protokolls.

Hand war eine kontinuierliche Abnahme der Hautdurchblutung erst ab Stimulationsfrequenzen von 0.25 Hz nachweisbar. Da die sympathischen Nervenfasern zu diesem Hautareal nicht direkt stimuliert wurden, es aber dennoch zu einer Abnahme der Hautdurchblutung bei hohen Stimulationsfrequenzen kam, kann angenommen werden, daß bei diesen hohen Stimulationsfrequenzen eine generelle sympathische Aktivierung einsetzte, die möglicherweise durch die Wahrnehmung des Stimulationsreizes ausgelöst wurde. Alternativ könnte die kontralaterale Vasokonstriktion durch ipsilaterale Stimulation von afferenten Fasern des N. medianus, die z.B. von kutanen Thermo- oder Mechanorezeptoren ausgehen getriggert worden sein.



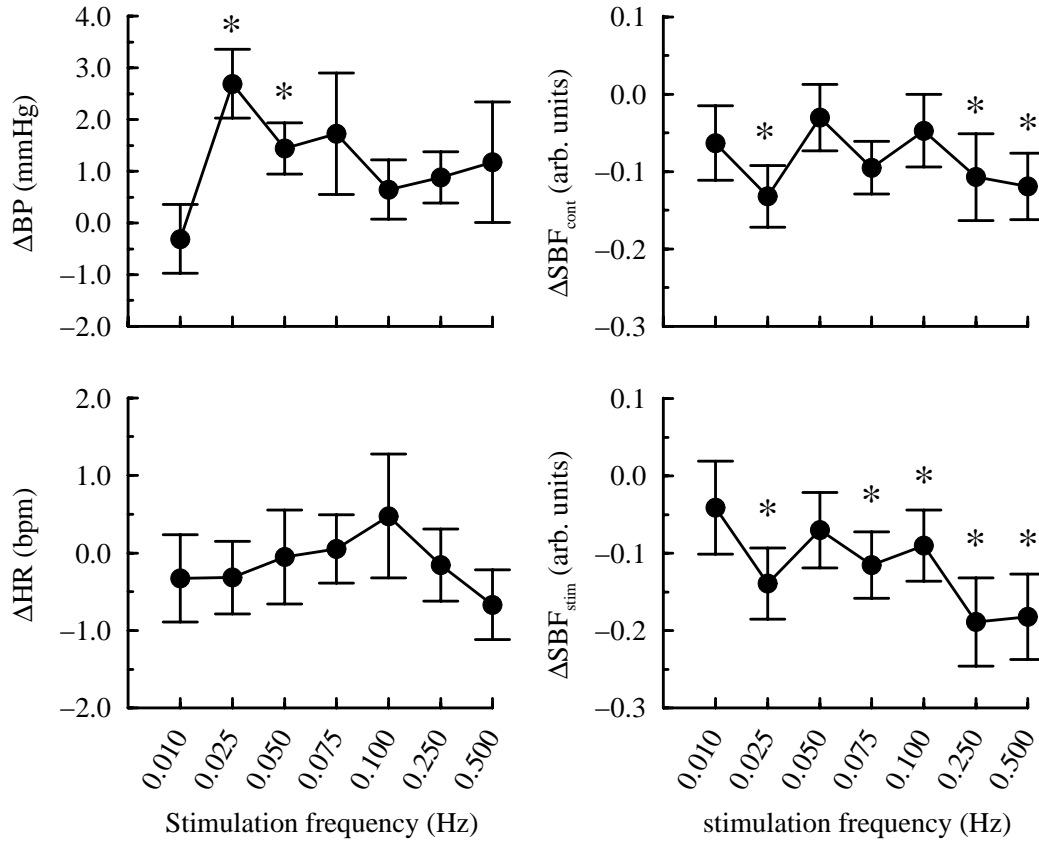


Abbildung 4.12: Änderungen des Blutdrucks (BP), der Herzfrequenz (HR), sowie der Hautdurchblutung in der ipsilateralen ( $SBF_{stim}$ , stimulierten) und kontralateralen ( $SBF_{cont}$ , nicht stimulierten) Hand durch elektrische Stimulation von sympathischen Hautfasern des N. medianus mit steigenden Stimulationsfrequenzen. \*  $p < 0.05$  absolute Mittelwerte während Stimulation versus absolute Mittelwerte während Kontrollregistrierung ohne Stimulation, unmittelbar vor der jeweiligen Stimulationssequenz.

### 4.2.3 Frequenzcharakteristik der sympathischen Übertragung auf die Hautgefäße

Eine Originalregistrierung des Blutdrucks, der Herzfrequenz, der Atemtätigkeit und der Hautdurchblutung in der ipsilateralen (stimulierten) und kontralateralen (nicht stimulierten) Hand während elektrischer Stimulation des N. medianus mit einer Stimulationsfrequenzen von 0.075 Hz (Wellenlänge  $\lambda = 13.3$  s) ist in Abbildung 4.13 gezeigt.

Eine starke periodische Schwankung, die zur Stimulationsfrequenz von 0.075 Hz korrespondiert (Wellenlänge  $\lambda = 13.3$  s) ist in der Hautdurchblutung der ipsilateralen (stimulierten) Hand deutlich erkennbar. Die sponta-

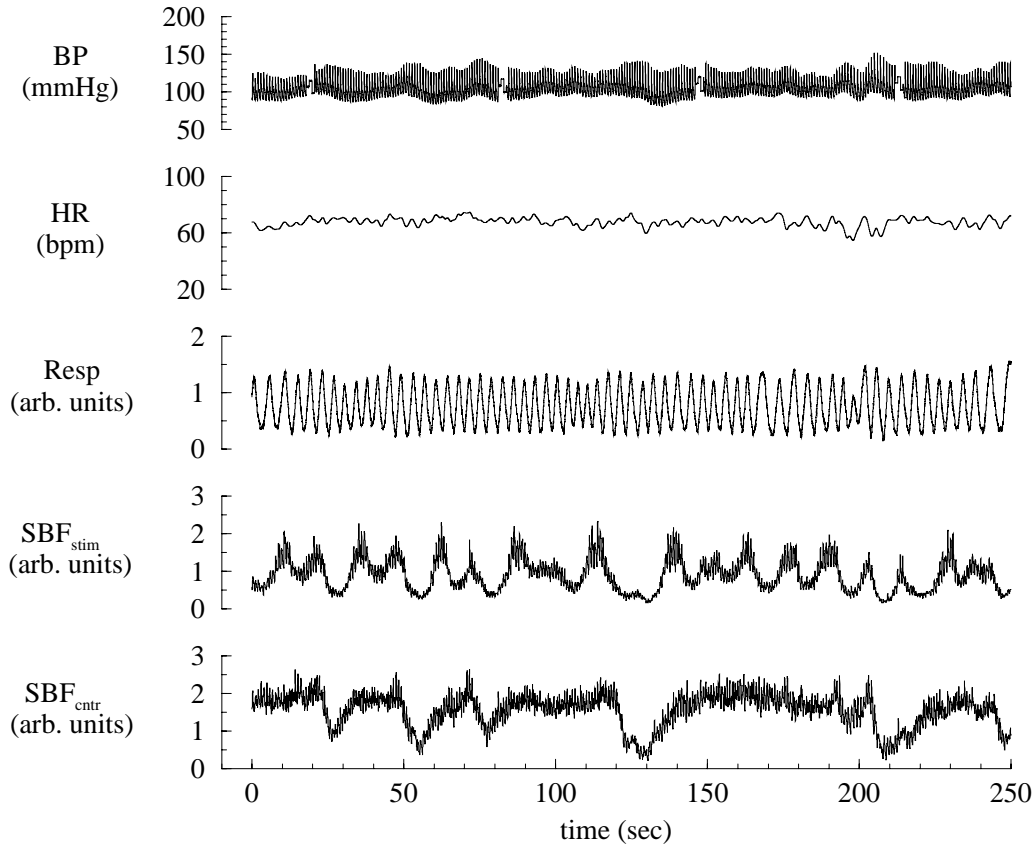


Abbildung 4.13: Originalregistrierung des Blutdrucks (BP), der Herzfrequenz (HR), der Atemtätigkeit (Resp) und der Hautdurchblutung in der ipsilateralen ( $SBF_{stim}$ , stimulierten) und kontralateralen ( $SBF_{cnr}$ , nicht stimulierten) Hand während Stimulation des linken N. medianus mit einer Stimulationsfrequenz von 0.075 Hz ( $\lambda=13.3$  s). Eine starke Schwankung mit einer Wellenlänge von 13.3 s ist in der Hautdurchblutung der ipsilateralen Hand erkennbar.

nen Schwankungen in der Hautdurchblutung der Kontrollregistrierung der kontralateralen (nicht stimulierten) Hand hatten keinen direkten Bezug zur Nervenstimulation und sind möglicherweise auf Einflüsse der Thermoregulation, auf Modulationen durch endokrine Systeme, oder auf andere Faktoren zurückzuführen.

Die Powerspektren der Hautdurchblutung der ipsilateralen (stimulierten) und kontralateralen (nicht stimulierten) Hand eines repräsentativen Probanden sind als Höhenliniendiagramme in Abbildung 4.14 dargestellt. Die Stimulationsfrequenzen sind auf den y-Achsen aufgetragen und die spektralen Frequenzen auf den x-Achsen.

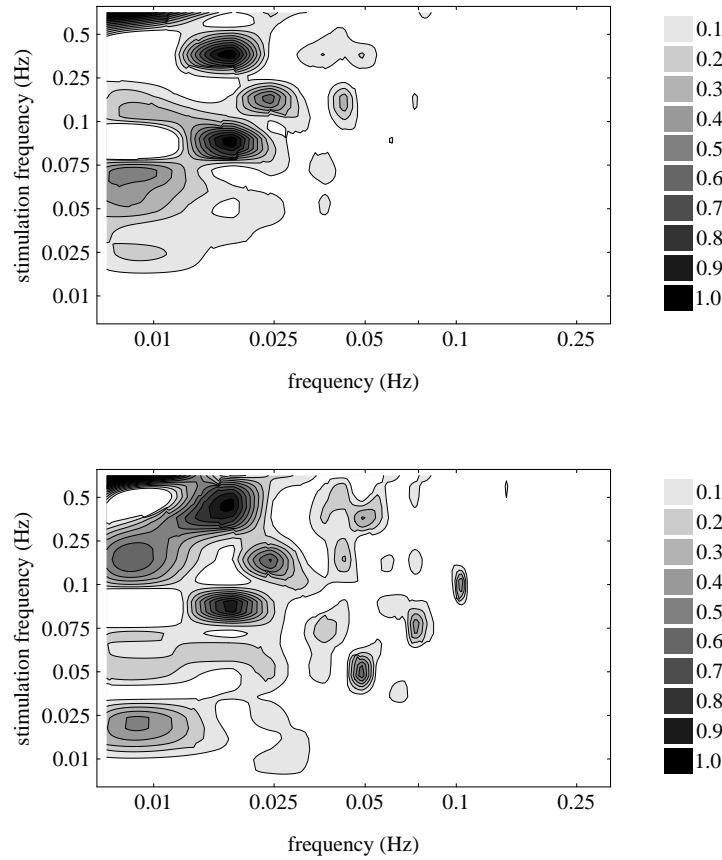


Abbildung 4.14: Höhenliniendiagramme der Powerspektren der Hautdurchblutung in der kontralateralen (nicht stimulierten, oben) und ipsilateralen (stimulierten, unten) Hand. Der N. medianus wurde mit steigenden Stimulationsfrequenzen (y-Achsen) elektrisch stimuliert. Die Frequenzachsen (x-Achsen) sind im logarithmischen Maßstab dargestellt. Die Spektren wurden normalisiert, so daß die größte Leistungsdichte in jedem Spektrum dem Wert eins (schwarze Färbung) entspricht.

Peaks hoher Leistungsdichte sind im Powerspektrum der Hautdurchblutung der ipsilateralen (stimulierten) Hand bei Stimulationsfrequenzen von 0.05, 0.075 und 0.1 Hz klar erkennbar. Ein kleinerer Peak könnte eventuell bei der Stimulationsfrequenz von 0.025 Hz vorhanden sein, ist aber vom umgebenden “Rauschen” schwer abgrenzbar. Die quantitative Auswertung der Powerspektren ist in Abbildung 4.15 dargestellt. Die Änderungen der spektralen Leistungsdichte (Fläche unter der Kurve in einem Frequenzband, das um die jeweilige Stimulationsfrequenz zentriert ist) der Powerspektren der

Hautdurchblutung, die durch die elektrische Stimulation des N. medianus hervorgerufen wurden, sind aufgetragen.

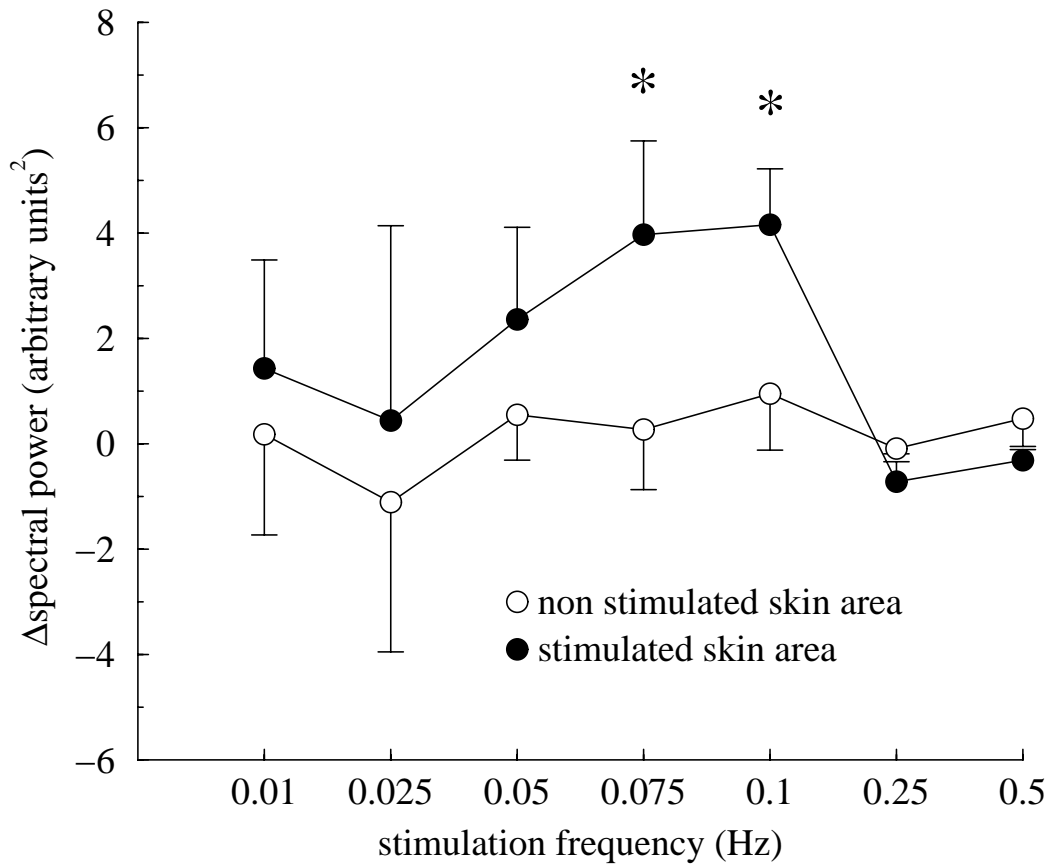


Abbildung 4.15: Änderungen der spektralen Leistungsdichte der Hautdurchblutung der ipsilateralen (stimulierten) und kontralateralen (nicht stimulierten) Hand. Die Leistungsdichte wurde als Fläche unter der Kurve in einem Frequenzbereich des Powerspektrums, der um die jeweilige Stimulationsfrequenz zentriert war berechnet. Gezeigt sind die Differenzen der Leistungsdichte während der Stimulation des N. medianus und der Leistungsdichte während der Kontrollregistrierung ohne Stimulation, die der jeweiligen Stimulationssequenz voraus ging. \*  $p < 0.05$  absolute Flächen unter der Kurve während Stimulation des n. medianus versus absolute Flächen unter der Kurve während der zugehörigen Kontrollregistrierung.

Signifikante Anstiege der Leistungsdichte durch die Nervenstimulation wurde bei Stimulationsfrequenzen von 0.075 und 0.1 Hz in der ipsilateralen (stimulierten) Hand, nicht aber in der kontralateralen (nicht stimulierten) Hand gefunden. Dies zeigt, daß die Zunahme der Leistungsdichte bei diesen Stimulationsfrequenzen ein spezifischer, lokal ausgelöster Effekt ist, der durch

die direkte Stimulation des N. medianus hervorgerufen wurde.

### 4.3 Autonome Modulation der Herzfrequenz bei wachen Ratten

Elektrische Stimulation des PVN führt zu einer gleichzeitigen sympathischen und parasympathischen Aktivierung [42, 48, 73]. Daher war es in den Versuchsgruppen, bei denen der PVN elektrisch stimuliert wurde möglich, die autonome (sympathische und parasympathische) Modulation der Schrittmacherefunktion des Sinusknotens des Herzens zu untersuchen. Durch Gleichzeitige autonome Rezeptorblockaden war es ferner möglich, zwischen sympathisch-vermittelten und parasympathisch-vermittelten Effekten zu unterscheiden. Die Effekte der Stimulation des PVN auf die Herzfrequenz während Kontrollbedingungen (NaCl Infusion),  $\beta_1$ -adrenerger Rezeptorblockade und während muskarinerger Rezeptorblockade sind im oberen Teil der Abbildung 4.16 dargestellt.

Während Kontrollbedingungen (NaCl Infusion) und  $\beta_1$ -adrenerger Rezeptorblockade nahm die Herzfrequenz mit zunehmenden Stimulationsfrequenzen ab. Dagegen kam es während muskarinerger Rezeptorblockade mit zunehmenden Stimulationsfrequenzen zu einem Anstieg der Herzfrequenz. Die Bradykardie durch PVN Stimulation mit höheren Stimulationsfrequenzen unter Kontrollbedingungen und während  $\beta_1$ -adrenerger Rezeptorblockade sowie die Tachykardie bei PVN Stimulation während muskarinerger Rezeptorblockade zeigen, daß elektrische Stimulation des PVN zu einer Aktivierung beider Zweige des autonomen Nervensystems (Sympathikus und Parasympathikus) führt.

Die Frequenzcharakteristik der autonomen Modulation der Schrittmacherefunktion des Sinusknotens des Herzens durch den Sympathikus und den Parasympathikus wurde mit der Methode der Powerspektralanalyse untersucht. Die Powerspektren der Herzfrequenz während PVN Stimulation mit zunehmenden Stimulationsfrequenzen sind in Abbildung 4.17 unter Kontrollbedingungen (NaCl Infusion) dargestellt. Die Abbildung zeigt ein Höhenliniendiagramm, bei dem die Spektren aller zehn Tiere gemittelt wurden. Bei allen Stimulationsfrequenzen von 0.05 bis 2.0 Hz sind im Spektrum klar abgegrenzte Peaks erkennbar. Daraus kann geschlossen werden, daß der Sinusknoten des Herzens seine Schrittmacheraktivität mindestens innerhalb einer halben Sekunde (2.0 Hz) also ungefähr im Zeitraum, in dem bei wachen Ratten drei Herzschläge ablaufen, verändern kann.

Die quantitative Auswertung der Powerspektralanalyse ist in Abbil-

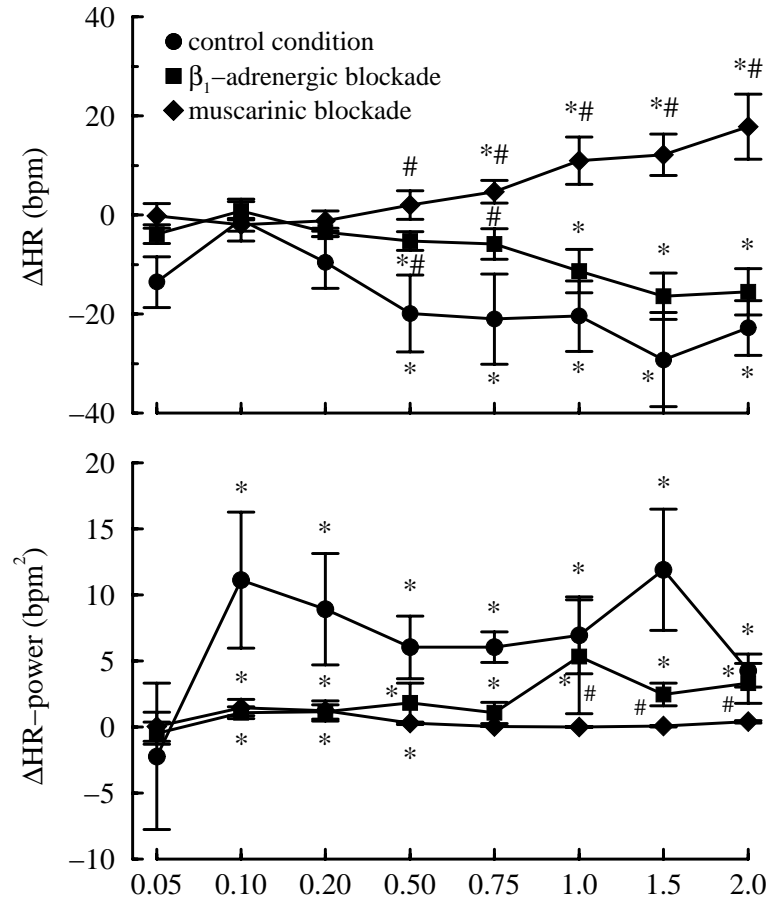


Abbildung 4.16: Oben: Effekte der PVN Stimulation mit steigenden Stimulationsfrequenzen auf die Herzfrequenz (HR) während Kontrollbedingungen (NaCl Infusion),  $\beta_1$ -adrenerger Rezeptorblockade und während muskarinerger Rezeptorblockade. Die Differenzen zwischen den Mittelwerten der drei-minütigen Registrierungen während Stimulation und der jeweiligen Kontrollregistrierung ohne Stimulation sind dargestellt. \*  $p < 0.05$  absolute Werte während Stimulation versus absolute Werte während der Kontrollregistrierung ohne Stimulation, #  $p < 0.05$  Differenzen während  $\beta_1$ -adrenerger oder muskarinerger Rezeptorblockade versus Kontrollbedingungen (NaCl Infusion). Unten: Änderungen der spektralen Leistungsdichte der Herzfrequenz durch die PVN Stimulation während Kontrollbedingungen (NaCl Infusion),  $\beta_1$ -adrenerger Rezeptorblockade und während muskarinerger Rezeptorblockade. Die spektrale Leistungsdichte wurde als Fläche unter der Kurve der Powerspektren in einem Frequenzband, das um die jeweilige Stimulationsfrequenz zentriert war berechnet. Differenzen der spektralen Leistungsdichten während Stimulation des PVNs und der jeweiligen Kontrollregistrierung ohne Stimulation sind aufgetragen. \*  $p < 0.05$  absolute Werte während Stimulation versus absolute Werte während der Kontrollregistrierung ohne Stimulation, #  $p < 0.05$  Differenzen während  $\beta_1$ -adrenerger versus Differenzen während muskarinerger Rezeptorblockade.

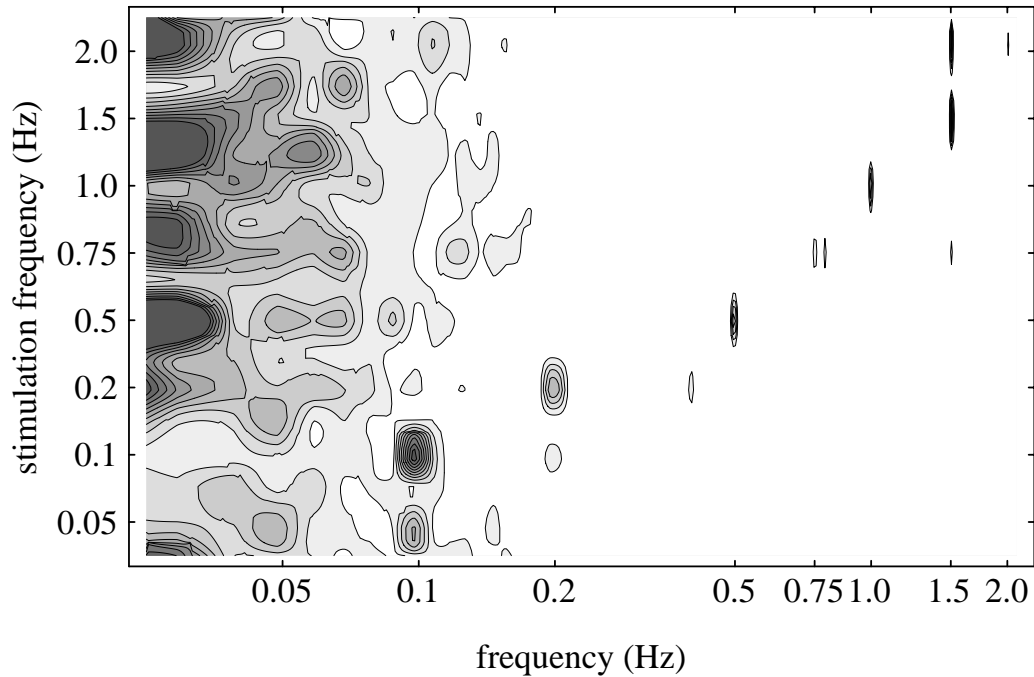


Abbildung 4.17: Höhenliniendiagramm der Powerspektren der Herzfrequenz während Kontrollbedingungen. Der PVN wurde mit steigenden Stimulationsfrequenzen (y-Achse) elektrisch stimuliert. Das Diagramm zeigt die über alle Tiere der Studie (n=10) gemittelten Spektren. Die Frequenzachse (x-Achse) ist in einem logarithmischen Maßstab dargestellt.

dung 4.16 (unten) gezeigt. Während Kontrollbedingungen (NaCl Infusion) und während  $\beta_1$ -adrenerger Rezeptorblockade kam es bei Stimulationsfrequenzen von 0.1 bis 2.0 Hz zu einem signifikanten Anstieg der spektralen Leistungsdichte im Frequenzbereich um die jeweilige Stimulationsfrequenz. Dagegen kam es unter muskarinerger Rezeptorblockade nur in einem engeren Frequenzbereich von 0.1 bis 0.5 Hz zu einer Zunahme der Leistungsdichte im Frequenzband um die jeweilige Stimulationsfrequenz. Der eingengte Übertragungsbereich während muskarinerger Rezeptorblockade (0.1-0.5 Hz) im Vergleich zum Übertragungsbereich unter  $\beta_1$ -adrenerger Rezeptorblockade (0.1-2.0 Hz) zeigt, daß die sympathische Übertragung auf den Sinusknoten mindestens vier mal langsamer ist als die parasympathische Übertragung. Während beiden autonomen Rezeptorblockaden war die Zunahme der spektralen Leistungsdichte im Frequenzband um die Stimulationsfrequenz durch

die PVN Stimulation quantitativ schwächer ausgeprägt als während Kontrollbedingungen (NaCl Infusion). Dies spiegelt den Sachverhalt wieder, daß die Herzfrequenz während autonomer Rezeptorblockade nur vom nicht geblockten Zweig des autonomen Nervensystems moduliert wurde, während unter Kontrollbedingungen beide autonome Systeme modulierend auf die Herzfrequenz einwirken konnten. Bei Stimulationsfrequenzen oberhalb von 0.75 Hz waren die spektralen Herzfrequenzeffekte der PVN Stimulation unter  $\beta_1$ -adrenerger Rezeptorblockade größer als unter muskarinerger Rezeptorblockade. Dies bedeutet, daß bei diesen höheren Frequenzen der Sinusknoten auf parasympathische Reize mehr anspricht als auf sympathische.



# Kapitel 5

## Diskussion

Das Ziel der hier beschriebenen Arbeiten war es, die Frequenzcharakteristik der sympathischen Übertragung auf die glatte Gefäßmuskulatur zunächst an wachen Ratten und dann beim Menschen zu beschreiben. Diese Untersuchungen erlauben Aussagen darüber, wie schnell die Blutgefäße auf sympathische Reize mit einer Vasokonstriktion reagieren und über eine entsprechende Änderung des peripheren Gefäßwiderstandes den Blutdruck modulieren können. Ein weiteres Ziel war es herauszufinden, wie schnell bei wachen Ratten der Sinusknoten des Herzens auf sympathische und parasympathische Einflüsse mit einer Änderung der Herzfrequenz reagieren kann. Die Kenntnis dieser Frequenzcharakteristiken ermöglicht eine differenzierte Interpretation von Powerspektren des Blutdrucks und der Herzfrequenz, die zunehmend zu diagnostischen [13, 16, 28, 30, 37, 52, 57, 76, 82, 104] und differentialtherapeutischen [21] Zwecken sowie zur Prognoseabschätzung [56] bei verschiedenen Krankheitsbildern eingesetzt werden.

Die Ergebnisse dieser Habilitationsschrift zeigen, daß die glatte Gefäßmuskulatur der Mesenterialarterie bei wachen Ratten auf sympathische Stimulationen mit Frequenzen von 0.05 bis 1.0 Hz mit gleichfrequenten Oszillationen des Gefäßwiderstandes reagiert. Höherfrequente sympathische Stimuli führen dagegen zu keinen oszillatorischen Schwankungen des Gefäßwiderstandes, sondern bewirken lediglich eine tonische Vasokonstriktion. Zusätzlich wurde in einer humanphysiologischen Studie gezeigt, daß die sympathische Übertragung auf Hautgefäße beim Menschen viel langsamer erfolgt als z.B. die sympathische Übertragung auf Mesenterialgefäße wacher Ratten. Schließlich wurde bei wachen Ratten ein Hirnkern im Hypothalamus (PVN) elektrisch stimuliert und dadurch efferente kardiovaskuläre Effekte ausgelöst. In diesem Modell konnten Erkenntnisse aus humanphysiologischen Studien [77] und aus Experimenten am narkotisierten Hund [7] untermauert werden, welche schließen ließen, daß die sympathische Modulation der Herzfrequenz viel langsamer

ist als die parasympathische Beeinflussung der Herzfrequenz.

## 5.1 Sympathische Modulation des Gefäßtonus bei wachen Ratten

Sowohl direkte sympathische Nervenstimulationen als auch sympathische Reize, die über elektrische Stimulationen des PVN ausgelöst wurden, bewirkten im Frequenzband von 0.05 bis 1.0 Hz periodische Vasokonstriktionen und Vasodilatationen, die der Frequenz der sympathischen Reize folgten. Da in das Gefäßbett des Mesenterialgebietes ein großer Anteil des Herzminutenvolumens fließt [17] ist es nicht verwunderlich, daß die sympathisch ausgelösten Oszillationen des mesenterialen Gefäßwiderstandes in Oszillationen des arteriellen Blutdrucks übertragen wurden. Obwohl diese dynamische Blutdruckantwort bei Stimulationsfrequenzen von 0.1 bis 1.0 Hz signifikant war, war die Zunahme der Leistungsdichte des Powerspektrums des Blutdrucks bei den äußeren Frequenzen dieses Frequenzbands (0.1 Hz und 1.0 Hz) sehr klein und spielt physiologisch möglicherweise keine wesentliche Rolle. Der physiologisch relevante Frequenzbereich, in dem Oszillationen der peripheren efferenten sympathischen Nervenaktivität auf den Gefäßwiderstand und auf den arteriellen Blutdruck übertragen werden liegt demnach bei der wachen Ratte im Bereich von 0.2 bis 0.5 Hz. Bei höheren Frequenzen gewinnt die tonische (nicht-oszillatorische) Komponente zunehmend an Bedeutung und es kommt zu einer konstanten (nicht-oszillatorischen) Zunahme des Gefäßwiderstands und des arteriellen Blutdrucks.

Das Ergebnis, daß die dynamische Modulation des Gefäßwiderstandes bei wachen Ratten im Frequenzband von 0.2 bis 0.5 Hz am effektivsten ist, kann als überraschend angesehen werden, da bisher davon ausgegangen wurde, daß das sympathische Nervensystem zu träge ist, um Frequenzen oberhalb von 0.15 Hz auf die glatte Gefäßmuskulatur zu übertragen [40, 61, 65]. Die bisher zu dieser Fragestellung publizierten Studien wurden in den 60er Jahren von Rosenbaum und Race [74] sowie von Polster, Seller, Langhorst und Koepchen [67, 81] durchgeführt. In der ersten Studie [74] wurde bei barbituratnarkotisierten Hunden am Modell des isolierten Hinterbeins der sympathische Lumbalnerv elektrisch stimuliert und die Durchblutung des Hinterbeins aufgezeichnet. Die Autoren fanden, daß bei Stimulationsfrequenzen oberhalb von 0.017 Hz die Antwort des Gefäßwiderstands der Hinterbeine schnell kleiner wurde. In der anderen Studie [67, 81] wurde die Durchblutung in einem isolierten Hautareal der lateralen Kniegegend bei mit einem Morphin-Chloralose Gemisch narkotisierten Hunden während elektrischer Stimulation

des zugehörigen Nervs (Ast des N. saphenus) untersucht. Die Zeit vom Beginn des Reizes bis zum Maximum der Vasokonstriktion betrug in dieser Studie 8-10 s. Die obere Grenzfrequenz ( $f_o$ ) von 0.017 Hz in der Studie von Rosenbaum und Race [74] entspricht einer Zeitkonstanten  $\tau$  von 58.8 s und ist wesentlich kleiner als die obere Grenzfrequenz, die in der Studie von Polster, Seller, Langhorst und Koepchen [67, 81] ( $f_o=0.125$  Hz,  $\tau=8$  s) sowie in der vorliegenden Arbeit bei wachen Ratten für die Mesenterialarterie ( $f_o=0.5$  Hz,  $\tau=2$  s) gefunden wurde. Diese Diskrepanz kann nicht durch die Narkose in den Studien aus den 60er Jahren erklärt werden, da in der vorliegenden Studie gezeigt werden konnte, daß Barbituratnarkose zwar das Frequenzband der sympathischen Übertragung einengt und die Stärke der Reizantwort der Gefäßmuskulatur abschwächt, nicht aber den Frequenzbereich der sympathischen Übertragung zu niederen Frequenzen hin verschiebt (siehe Abbildung 4.5). Als mögliche Ursachen für die unterschiedlichen Befunde in diesen Studien kommen einerseits die unterschiedlichen Spezies der Versuchstiere (Hunde versus Ratten) und andererseits die unterschiedlichen Gefäßgebiete (Skelettmuskulatur versus Haut versus Mesenterialgebiet) in Frage. Außerdem könnten die experimentellen Protokolle eine wesentliche Rolle spielen. Rosenbaum und Race verwendeten z.B. das Modell des isolierten Hinterbeins mit konstanter (nicht-pulsatiler) Perfusion über eine extrakorporale Perfusionspumpe zusammen mit einer künstlichen Oxygenierung des Blutes. Dieses methodische Vorgehen greift erheblich in die Kreislaufregulation ein und muß bei der Interpretation der extrem langen Zeitkonstanten in den Experimenten von Rosenbaum und Race [74] berücksichtigt werden.

In einer Studie von Berger und Mitarbeitern [7] wurden die sympathischen N. cardiaca mit frequenzmodulierten Reizen elektrisch stimuliert und die Übertragungsfunktion vom Reizsignal auf die Herzfrequenz bei barbituratnarkotisierten Hunden berechnet. Dabei wurde eine obere Grenzfrequenz der sympathischen Übertragung auf die Herzfrequenz von ungefähr 0.15 Hz gefunden. Diese Studie kann jedoch nicht direkt mit der Stimulation von sympathischen Nerven zu Blutgefäßen verglichen werden, da die sympathische Übertragung über unterschiedliche Rezeptoren ( $\beta_1$ - versus  $\alpha_1$ -adrenerge Rezeptoren) erfolgt und außerdem unterschiedliche Effektororgane untersucht wurden (Sinusknoten des Herzens versus glatte Gefäßmuskulatur). Dennoch zeigt auch die Studie von Berger und Mitarbeitern [7], daß sympathisch innervierte Organe grundsätzlich auf Reize, die schneller sind als die von Rosenbaum und Race [74] beschriebenen 0.017 Hz, mit einer dynamischen Reizantwort reagieren können.

Das Ergebnis, daß die sympathische Übertragung auf die Blutgefäße bei wachen Ratten im Frequenzbereich von 0.2 bis 0.5 Hz am effektivsten ist, steht in Einklang mit anderen tierexperimentellen Studien, in denen die mit-

telfrequenten Oszillationen des Blutdrucks bei Ratten untersucht wurde. In früheren Studien des Autors konnte gezeigt werden, daß zwischen den Signalen der peripheren sympathischen Nervenaktivität und dem arteriellen Blutdruck im Frequenzband zwischen 0.2 und 0.8 Hz eine große Kohärenz ( $> 0.5$ ) besteht [65, 87]. Dieser Befund, zusammen mit Befunden die zeigen, daß die Leistungsdichte des Powerspektrums des Blutdrucks in diesem Frequenzbereich durch  $\alpha_1$ -adrenerge Rezeptorblockade deutlich reduziert wird [39, 65, 87] lassen den Schluß zu, daß zwischen mittelfrequenten Oszillationen der peripheren sympathischen Nervenaktivität und gleichfrequenten Blutdruckoszillationen eine Ursache-Wirkungs Beziehung besteht. Ein weiterer Hinweis für die Gültigkeit dieser Schlußfolgerung kommt aus einer Arbeit von Julien und Mitarbeitern [40]. In dieser Arbeit konnte eine signifikante Kohärenz zwischen Blutdruck und vaskulärer Leitfähigkeit im mittelfrequenten Frequenzband (0.27-0.74 Hz) bei intakten Ratten, nicht aber bei Ratten, bei denen die Noradrenalin-Freisetzung aus den sympathischen Varikositäten durch Stabilisierung der Axoplasmamembran mit Guanethidin verhindert wurde, aufgezeigt werden. Das heißt, mittelfrequente periodische Fluktuationen des Gefäßwiderstands, die auf den Blutdruck einwirken, sind von einem intakten sympathischen Nervensystem abhängig. Die signifikante Kohärenz im mittelfrequenten Frequenzband zwischen der peripheren efferenten sympathischen Nervenaktivität und dem arteriellen Blutdruck [65, 87], sowie die Blockierbarkeit der mittelfrequenten Kohärenz zwischen Blutdruck und vaskulärer Leitfähigkeit durch Antisymphotonika [40] bestätigen das Konzept, daß bei wachen Ratten der arterielle Blutdruck über sympathisch ausgelöste Schwankungen des Gefäßtonus mit einer Frequenz von mindestens 0.5 Hz moduliert werden kann.

Der Befund, daß der Gefäßtonus bei wachen Ratten bis mindestens 0.5 Hz durch sympathische Nervenstimulationen moduliert werden kann bedeutet jedoch nicht, daß Oszillationen, die im zentralen Nervensystem generiert werden, auch in diesem Frequenzbereich auf periphere sympathische Nervenfasern übertragen werden können und dann Blutdruckoszillationen mit mittelfrequenten Frequenzen auslösen können. Zumindest besteht die Möglichkeit, daß die Übertragung vom zentralen Nervensystem auf periphere sympathische Nervenfasern ein Tiefpassverhalten aufweist und höhere Frequenzen nicht überträgt. Die Frage der Frequenzcharakteristik der Übertragung vom zentralen Nervensystem auf periphere sympathische Nerven ist von besonderem Interesse, da gezeigt werden konnte, daß die peripher abgeleitete, spontan auftretende sympathische Nervenaktivität bei wachen Ratten [11, 18, 65] und anästhesierten Katzen [49] Frequenzanteile bis zum hochfrequenten atemabhängigen Frequenzband aufweist. Um die Übertragung vom zentralen Nervensystem auf periphere sympathische Nervenfasern zu untersu-

chen wurde in den Studien zur vorliegenden Habilitationsarbeit der PVN, ein Hirnkern im Hypothalamus mit monosynaptischen Projektionen zu präganglionären sympathischen Neuronen im Rückenmark [5, 42, 50], elektrisch stimuliert und gleichzeitig die periphere sympathische Nervenaktivität und der Gefäßwiderstand in der Mesenterialarterie aufgezeichnet. Die Frequenzcharakteristik der Übertragung auf den Gefäßwiderstand der Mesenterialarterie war nicht davon abhängig, ob der Reiz unmittelbar am peripheren sympathischen N. splanchnicus major gesetzt wurde, oder seinen Ursprung im PVN hatte und erst vom zentralen Nervensystem auf periphere sympathische Nervenfasern übertragen werden mußte. Das heißt, die sympathische Modulation des Gefäßtonus wird nicht durch die Übertragung vom zentralen Nervensystem auf periphere sympathische Nervenfasern limitiert. Theoretisch können daher zentrale Oszillatoren den Gefäßwiderstand via Sympathikus bis zu Frequenzen in der Größenordnung von 1.0 Hz modulieren. Diese Schlußfolgerung wird durch die Befunde untermauert, die gezeigt haben, daß zwischen den Signalen des arteriellen Blutdrucks und der peripheren sympathischen Nervenaktivität zu den Nieren [11] und zum Mesenterium [87] im Frequenzbereich von 0.2 bis 0.8 Hz eine relativ hohe Kohärenz ( $> 0.5$ ) besteht. Diese enge Kopplung zwischen der peripheren sympathischen Nervenaktivität und dem arteriellen Blutdruck unterhalb aber nicht oberhalb von 1.0 Hz kann durch die Befunde der vorliegenden Experimente erklärt werden, da gezeigt wurde, daß sympathische Reize mit Frequenzen oberhalb von 1.0 Hz keine entsprechenden Oszillationen des Gefäßwiderstandes verursachen, sondern lediglich zur tonischen Vasokonstriktion führen.

## 5.2 Sympathische Modulation des Gefäßtonus beim Menschen

Die tierexperimentelle Versuche dieser Arbeit zeigten, daß die dynamische Antwort der sympathischen Übertragung auf die glatte Gefäßmuskulatur bei wachen Ratten im Frequenzbereich von 0.2 bis 0.5 Hz am stärksten ist. Dies steht jedoch im Widerspruch zu Studien am Menschen, bei denen der Sympathikotonus durch Applikation von Streß erhöht [51, 60] oder durch pharmakologische Rezeptorblockade reduziert wurde [21]. Diese Studien kamen zum Schluß, daß die sympathische Modulation des Blutdrucks beim Menschen in einem Frequenzband um 0.1 Hz am ausgeprägtesten ist. Der unterschiedliche Frequenzbereich der sympathischen Modulation des Blutdrucks bei Mensch und Ratte legt die Vermutung nahe, daß Speziesunterschiede in der sympathischen Übertragung auf die glatte Gefäßmuskulatur oder der nachgeschalteten

elektro-mechanischen Kopplung bestehen. Um diese möglichen Speziesunterschiede zu untersuchen, wurde in den Arbeiten zu dieser Habilitationsschrift die sympathische Übertragung auf Blutgefäße der Haut beim Menschen untersucht. Durch Laser-Doppler Flußmessungen der Hautdurchblutung konnte gezeigt werden, daß die Hautdurchblutung durch periodische sympathische Nervenstimulationen im Frequenzband von 0.05 bis 0.1 Hz moduliert werden kann. Dies kann so interpretiert werden, daß die sympathische Übertragung auf Blutgefäße der Haut sich wie ein Tiefpassfilter mit einer oberen Grenzfrequenz von 0.1 Hz verhält. Dieses Frequenzverhalten steht in Einklang mit den oben genannten Studien [21, 51, 60]. Im Unterschied zu diesen indirekten Studien erbringen die in dieser Arbeit vorgestellten Experimente einen direkten Hinweis darauf, daß der niederfrequente Peak (zentriert um 0.1 Hz) im Powerspektrum des Blutdrucks beim Menschen die sympathische Modulation der Vasomotoraktivität widerspiegeln.

In den tierexperimentellen Versuchen dieser Arbeit wurden die Effekte der direkten sympathischen Nervenstimulation [90] und der Stimulation des hypothalamischen PVN [88] auf den mesenterialen Gefäßwiderstand untersucht und die größten dynamischen Effekte wurden bei Stimulationsfrequenzen zwischen 0.2 und 0.5 Hz gefunden. Diese schnellere sympathische Übertragung auf die glatte Gefäßmuskulatur bei der Ratte als wie beim Menschen könnte auf verschiedene Ursachen zurückzuführen sein. Erstens wurden unterschiedliche Gefäßbette untersucht. Es könnte sein, daß Hautgefäße auf sympathische Reize langsamer reagieren als mesenteriale Gefäße. Speziell könnte sich die Geschwindigkeit der den  $\alpha_1$ -adrenergen Rezeptoren nachgeschalteten Mechanismen in den unterschiedlichen Gefäßbetten unterscheiden. In Frage kommen daher Unterschiede in :

1. der Aktivierung der membranständigen Phospholipase C
2. der Bildung von Inositoltriphosphat ( $IP_3$ ) und Diacylglycerol (DAG)
3. der Freisetzung von Kalziumionen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum und (möglicherweise ebenfalls bedeutsam) dem Einstrom von extrazellulärem Kalzium
4. der Aktivierung der Myosinleichtkettenkinase
5. der Funktion der Sarkomere.

Zweitens könnte der synaptische Spalt zwischen den Varikositäten sympathischer Nervenfasern und den  $\alpha_1$ -adrenergen Rezeptoren beim Menschen weiter sein, als bei der Ratte. Außerdem könnte die Dichte der Varikositäten,

aus denen der Neurotransmitter Noradrenalin in den synaptischen Spalt sezerniert wird, bei der Ratte höher sein als beim Menschen und daher durch die zeitliche und räumliche Summation die Übertragung schnellerer Frequenzen ermöglichen [8]. Diese Möglichkeit ist von Bedeutung, da bekannt ist, daß die Mesenterialarterien bei Ratten eine sehr dichte sympathische Innervation aufweisen [29, 32, 33]. Studien, die die Dichte der sympathischen Innervation oder die Weite des synaptischen Spalts in verschiedenen vaskulären Regionen oder bei verschiedenen Spezies vergleichend untersucht haben stehen jedoch noch aus. Es können jedoch theoretische Überlegungen zur Diffusionszeit von Noradrenalin von den sympathischen Varikositäten zum  $\alpha_1$ -adrenergen Rezeptor angestellt werden. Die Diffusionszeit kann gemäß der Einstein'schen Diffusionsgleichung abgeschätzt werden. Da die sympathischen Varikositäten in Arterien direkt unter der Adventitia zu liegen kommen [19] wird als Modell der ein-dimensionale Halbraum gewählt. Die Aufenthaltswahrscheinlichkeit ( $p$ ) von Noradrenalin in einem bestimmten Abstand ( $x$ ) von der Varikosität in Abhängigkeit von der Zeit ( $t$ ) und vom Diffusionskoeffizienten ( $D$ ) errechnet sich dabei folgendermaßen:

$$p(x, t) = \frac{2}{\sqrt{4 * \pi * D * t}} \exp \left[ \frac{-x^2}{4 * D * t} \right]$$

Der Diffusionskoeffizient für Noradrenalin wurden experimentell von Morris und Mitarbeitern [55] in der Ohrarterie des Kaninchens bestimmt. Für die intraluminale Diffusion von Noradrenalin gaben die Autoren einen Diffusionskoeffizienten von  $10 \mu\text{m}^2/\text{s}$  an. Der Abstand zwischen den sympathischen Varikositäten und den adrenergen Rezeptoren beträgt in den Mesenterialarterien von Ratten ungefähr  $0.2 \mu\text{m}$  [25] und in der Pulmonalarterie von Kaninchen ca.  $2.0 \mu\text{m}$  [95]. Beim Menschen könnte dieser Abstand jedoch noch größer sein, da vermutet wird, daß der Weg, den die Noradrenalinmoleküle in der Gefäßwand diffundieren müssen um an die  $\alpha_1$ -adrenergen Rezeptoren zu gelangen, proportional zur Dicke der Gefäßwand ist, da sich die sympathischen Varikositäten unmittelbar unter der Adventitia befinden [19]. Setzt man diese Eckdaten in die Einstein'sche Diffusionsgleichung ein, dann ergeben sich die in Abbildung 5.1 dargestellten Beziehungen zwischen der Diffusionszeit ( $t$ ) und der Aufenthaltswahrscheinlichkeit ( $p$ ) von Noradrenalinmolekülen in den Abständen  $x_i=0.5, 1.0, 2.0$  und  $5.0 \mu\text{m}$  von den Varikositäten.

Aus dieser Abbildung wird klar, daß zumindest für die sympathische Übertragung auf die glatte Gefäßmuskulatur der Ratte (synaptischer Spalt  $0.2 \mu\text{m}$ ) die Diffusionszeit nicht entscheidend für die Frequenzcharakteristik sein kann, da die Aufenthaltswahrscheinlichkeit bei einer Diffusionsstrecke von  $0.5 \mu\text{m}$  ihr Maximum erst bei ca. 10 ms hat (durchgezogene schwarze

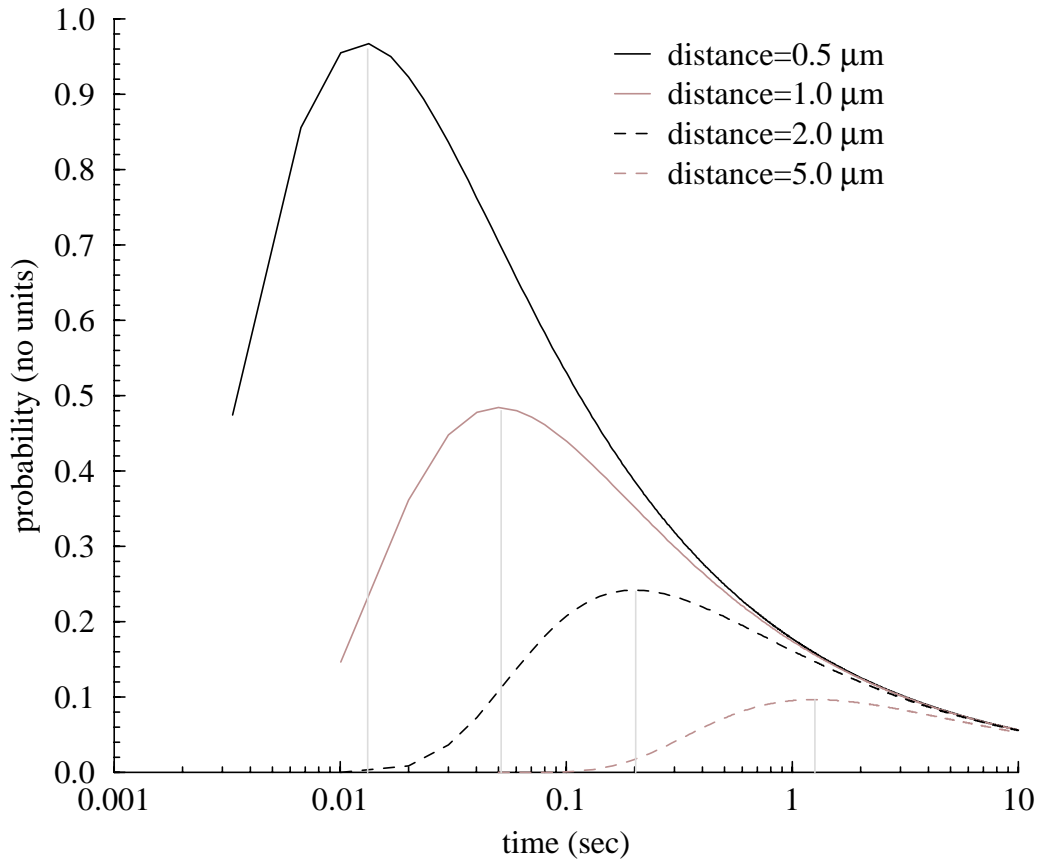


Abbildung 5.1: Beziehung zwischen Diffusionszeit und Aufenthaltswahrscheinlichkeit von Noradrenalinmolekülen in den Abständen 0.5, 1.0, 2.0 und 5.0  $\mu\text{m}$  von den sympathischen Varikositäten. Die Zeitachse (x-Achse) ist in einem logarithmischen Maßstab dargestellt.

Kurve in Abb. 5.1), die Zeitkonstante der sympathischen Übertragung auf die Mesenterialgefäße der Ratte aber im Bereich von 2 s lag. Bei Diffusionsstrecken oberhalb von 5  $\mu\text{m}$  (gestrichelte graue Kurve in Abb. 5.1), die bei humanen Arterien durchaus auftreten könnten, ist die Diffusionszeit allerdings bereits im Bereich von Sekunden und könnte somit einen wesentlichen Einfluß auf die Frequenzcharakteristik der sympathischen Modulation des Gefäßtonus nehmen. Diese Überlegungen basieren jedoch allein auf theoretischen Überlegungen und bedürfen noch der experimentellen Überprüfung.

Während des experimentellen Protokolls kam es zu einem Anstieg des Blutdrucks und einem Abfall der Hautdurchblutung in der kontralateralen (nicht stimulierten) Hand (siehe Abbildung 4.11). Daher kann angenommen



werden, daß der Sympathikotonus der Probanden im Verlauf des Experiments zunahm und gegen Ende des Protokolls, also zum Zeitpunkt, an dem die höheren Stimulationsfrequenzen appliziert wurden, am stärksten aktiviert war. Da keine der Stimulationsfrequenzen, einschließlich der schnellsten Stimulationen mit 0.5 Hz, mit Schmerzen assoziiert war, ist anzunehmen, daß die generelle Zunahme des Sympathikotonus bei den Probanden auf das lange experimentelle Protokoll zurückzuführen ist. Das Protokoll dauerte ungefähr zwei Stunden. Dabei mußten die Probanden ruhig auf dem Rücken liegen und durften ihre Arme nicht wesentlich bewegen, da sonst eine Dislokation der Laser-Doppler Sonden oder der Mikroneurographienadeln zu befürchten war. Diese generelle Zunahme des Sympathikotonus könnte zu einer Vasokonstriktion der Hautgefäße geführt haben. Dies wiederum könnte zu einer Reduktion der Ansprechbarkeit der Hautgefäße auf die sympathischen Nervenstimulationen mit höheren Frequenzen geführt haben, da die höheren Stimulationsfrequenzen gegen Ende des Versuchs appliziert wurden. Allerdings kam es während des experimentellen Protokolls nicht zu einer Abnahme der basalen Hautdurchblutung in der ipsilateralen (stimulierten) Hand und die Herzfrequenz zeigte keinen Anstieg während des Versuchs (siehe Abbildung 4.11). Daher könnte man argumentieren, daß es während des Versuchs nicht zu einer Zunahme des Sympathikotonus kam. Der Anstieg des Blutdrucks könnte auf einem Meßartefakt des Finapres Gerätes beruhen, der von Ristuccia und Mitarbeitern beschrieben wurde [72]. Demnach kommt es bei längeren Registrierungen des Blutdrucks mit der Finapres Methode, die auf einem plethysmographischen Meßprinzip beruht, zu einem nach oben gerichteten Trend, da das Volumen des Fingers durch den Druck der anliegenden Manschette allmählich zunimmt. Um diesen Effekt zu minimieren wurde nach jeder Stimulationsperiode die Luft aus der Fingermanschette abgelassen. Die Probanden durften jedoch während der einzelnen Stimulationsperioden keine "Fingergymnastik" durchführen, wie sie in der Arbeit von Ristuccia und Mitarbeitern [72] bei längeren Blutdruckmessungen mit der Finapres Methode empfohlen wurde, da die Gefahr einer Dislokation der Laser-Doppler Sonde, die an der selben Hand fixiert war, bestand. Ungeachtet der Frage, ob eine generelle sympathische Aktivierung bei den Probanden einsetzte oder nicht, besteht die Diskrepanz zwischen den Zeitverläufen der basalen Hautdurchblutung der ipsilateralen (stimulierten) und kontralateralen (nicht stimulierten) Hand (siehe Abbildung 4.11). Es ist denkbar, daß während des Experiments ein kreislaurelevantes System aktiviert wurde, das zu einer Vasokonstriktion der Hautgefäße beider Hände führte. Während der Stimulation wurden jedoch wahrscheinlich sowohl efferente als auch afferente Fasern des N. medianus stimuliert. Die afferente Nervenstimulation könnte über einen neuronalen Reflex zur Auslösung einer Vasodilatation in der Haut der stimulierten Hand

geführt haben. Der Nettoeffekt wäre also keine Änderung der basalen Hautdurchblutung in der stimulierten Hand, während die Hautdurchblutung in der nicht stimulierten Hand abnehmen würde. Genau diese Effekte wurden auch tatsächlich gefunden (siehe Abbildung 4.11). Es kann also nicht eindeutig ausgeschlossen werden, daß die hier beschriebene Frequenzcharakteristik der sympathischen Übertragung auf die Hautgefäße beim Menschen durch lokale vasokonstriktorische oder vasodilatatorische Systeme beeinflußt wurde. Allerdings war die Bilanz zwischen vasokonstriktorischer und vasodilatatorischer Systeme in der Haut der stimulierten Hand ausgeglichen, da die basale Hautdurchblutung während des experimentellen Protokolls konstant blieb.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, daß die lineare Beziehung zwischen elektrischen Stimulationen des N. medianus und den Veränderungen der Hautdurchblutung im Frequenzband von 0.075 und 0.10 Hz am stärksten ausgeprägt ist. Seit einiger Zeit werden jedoch auch nicht-lineare Beziehungen zwischen hämodynamischen Parametern als wesentlich für die Kreislaufregulation angesehen [66, 97–99]. Daher könnten neben linearen Beziehungen auch nicht-lineare Effekte an der sympathischen Übertragung auf die Hautgefäße beteiligt sein. Zum Beispiel ist im Spektrum der Hautdurchblutung eine ungleich verteilte, relativ hohe Leistungsdichte bei Frequenzen unterhalb der jeweiligen Stimulationsfrequenz erkennbar (siehe Abbildung 4.14, unten). Daher stellt sich die Frage, ob diese relativ hohe niederfrequente Leistungsdichte nicht der Ausdruck einer nicht-linearen sympathischen Übertragung auf die Hautgefäße ist. Der Vergleich der Powerspektren der Hautdurchblutung der stimulierten Hand (siehe Abbildung 4.14, unten) mit dem Powerspektrum der Hautdurchblutung der nicht stimulierten Hand (siehe Abbildung 4.14, oben) läßt jedoch erkennen, daß die beiden Powerspektren eine ähnlich ungleich verteilte, relativ hohe Leistungsdichte bei Frequenzen unterhalb der jeweiligen Stimulationsfrequenz aufweisen. Daher kann davon ausgegangen werden, daß nicht-lineare Anteile im niederfrequenten Bereich der Powerspektren der Hautdurchblutung durch die sympathische Nervenstimulation nicht verstärkt wurden. Vielmehr könnten für die niederfrequente Leistungsdichte bei Frequenzen unterhalb der jeweiligen Stimulationsfrequenzen modulierende Einflüsse der Thermoregulation, endokriner Systeme, oder andere Faktoren bedeutend sein.

Im Unterschied zu anderen Studien, in denen mit der Methode der Mikroneurographie die sympathische Aktivität peripherer Nerven aufgezeichnet wurde [4, 96, 101], wurde in der vorliegenden Arbeit die Methode der Mikroneurographie eingesetzt, um die vaskulären Effekte der elektrischen Stimulation eines peripheren sympathischen Nervens zu untersuchen. Während Nervenableitungen dazu genutzt werden können, die sympathische Aktivität peripherer Nerven zu studieren, kann durch die elektrische Stimulation pe-

ripherer sympathischer Nerven mit gleichzeitiger Aufzeichnung der dadurch bedingten Effekte die Funktion der sympathischen Erfolgsorgane untersucht werden. Die sympathische Nervenstimulation beim Menschen, die in der vorliegenden Arbeit angewendet wurde, ist eine neuartige Technik, die möglicherweise eingesetzt werden kann, um wichtige Erkenntnisse über pathophysiologische Vorgänge bei verschiedenen Erkrankungen zu gewinnen. Ein Beispiel ist die diabetische Neuropathie, die mit den Methoden der Mikroneurographie erkannt werden kann [34, 35] und bei der der Noradrenalinegehalt der Arterien reduziert ist, obwohl die Ansprechbarkeit der Gefäße auf sympathische Stimuli erhöht ist [20, 93]. Ein anderes Beispiel ist die Leberzirrhose, welche oft durch einen reduzierten totalen peripheren Gefäßwiderstand trotz erhöhter sympathischer Nervenaktivität charakterisiert ist. Dieser Zustand bei der Leberzirrhose ist wahrscheinlich auf eine reduzierte Ansprechbarkeit der Arterien und Arteriolen auf  $\alpha$ -adrenerge Stimuli zurückzuführen [9]. Außerdem könnte die Technik der sympathischen Nervenstimulation beim Menschen eingesetzt werden, um die vaskuläre Ansprechbarkeit auf sympathische Reize beim physiologischen Vorgang des Alterns zu untersuchen. Dies ist von besonderem Interesse, da es mit zunehmendem Alter möglicherweise zu einer Abnahme der  $\alpha$ -adrenergen Ansprechbarkeit der Blutgefäße kommt [36, 86, 89]. Während solchen Bedingungen könnte die Intensität der Effekte der sympathischen Nervenstimulation abgeschwächt oder verstärkt sein. Andererseits könnte die Frequenzcharakteristik der sympathischen Übertragung auf die Erfolgsorgane verändert sein. Zum Beispiel ist die verstärkte vaskuläre Ansprechbarkeit auf sympathische Reize bei Patienten mit diabetischer Neuropathie vermutlich auf eine eingeschränkte neuronale Wiederaufnahme von Katecholaminen zurückzuführen [20, 93]. Daher kann angenommen werden, daß die Noradrenalinmoleküle länger im synaptischen Spalt verbleiben und daher die Vasokonstriktion in Folge eines sympathischen Reizes länger bestehen bleibt. Dieser Effekt könnte eine Verschiebung des Frequenzbandes der dynamischen Antwort auf sympathische Reize hin zu niedrigeren Frequenzen zur Folge haben. Dieses hypothetische Modell bedarf jedoch noch der Klärung durch weitere Studien.

### 5.3 Sympathische und parasympathische Modulation der Herzfrequenz bei wachen Ratten

Durch elektrische Stimulation des PVN war es möglich rhythmische Aktivierungen des sympathischen und des parasympathischen Nervensystems aus-

zulösen. Durch gezielte autonome Rezeptorblockaden ( $\beta$ -adrenerge und muskarinerge Rezeptorblockaden) konnte zwischen einer sympathisch vermittelten (muskarinerge Rezeptorblockade) und einer parasympathisch vermittelten ( $\beta$ -adrenerge Rezeptorblockade) Antwort der Herzfrequenz auf die elektrischen Stimulationen des PVNs unterschieden werden. Die Frequenzcharakteristik der sympathischen Übertragung auf die Herzfrequenz (während muskarinerger Rezeptorblockade) entsprach der Frequenzcharakteristik der sympathischen Übertragung auf die glatte Gefäßmuskulatur. Dabei waren die größten dynamischen Effekte bei Stimulationsfrequenzen zwischen 0.1 und 0.5 Hz zu verzeichnen. Die gleichen Frequenzcharakteristiken der sympathischen Übertragung auf die Blutgefäße und auf den Sinusknoten des Herzens ist erstaunlich, da die Funktion dieser beiden sympathischen Erfolgsorgane von völlig unterschiedlichen intrazellulären Mechanismen abhängt. Während die Funktion der Schrittmacherzellen des Sinusknotens von der Permeabilität verschiedener Ionenkanäle abhängt, ist die Funktion des glatten Gefäßmuskels von der intrazellulären Kalziumkonzentration und der Interaktion der kontraktilen Proteine abhängig. Daher kann spekuliert werden, daß der frequenzbestimmende Schritt in der sympathischen Übertragung auf die Gefäßmuskulatur und auf die Schrittmacherzellen des Herzens identisch ist. Außerdem kann vermutet werden, daß der frequenzlimitierende Schritt der sympathischen Übertragung auf den Sinusknoten in der Signalkaskade der parasympathischen Übertragung nicht vorkommt, da die parasympathische Übertragung (während  $\beta$ -adrenerger Blockade) auf den Sinusknoten viel schneller erfolgte als die sympathische Übertragung (während muskarinerger Blockade). In anderen Worten, die gleichen Zellen des Sinusknotens zeigten völlig unterschiedliche Frequenzcharakteristiken, wenn sie über sympathische ( $\beta$ -adrenerge) oder über parasympathische (muskarinerge) Rezeptoren stimuliert wurden.

Ein guter Kandidat für den frequenzlimitierenden Schritt in der Signalkaskade der sympathischen Übertragung ist die Phosphorylierung und Öffnung der L-Typ Kalziumkanäle, da in einer Studie an Hunden gezeigt wurde, daß die Schritte der  $\beta$ -adrenergen Signalübertragung bis zur Bildung von cAMP im Rhythmus der Herzfrequenz (1.0-1.5 Hz) ablaufen können [46] und nicht auf Frequenzen unterhalb von 0.15 Hz beschränkt sind. In dieser Studie wurden mit der Methode der EKG-getriggerten Kryobiopsie Proben des Myokards des linken Ventrikels in unterschiedlichen Phasen des Herzzyklus gewonnen und die cAMP Konzentrationen bestimmt. Dabei wurde gefunden, daß die cAMP Konzentration mit dem Herzzyklus schwankt und ihr Maximum zum Zeitpunkt des maximalen Druckaufbaus im Ventrikel hat. Durch Vorbehandlung mit dem  $\beta$ -adrenergen Rezeptorantagonisten Propranolol konnten die herzfrequenzabhängigen Schwankungen der cAMP Kon-

zentration aufgehoben werden. Diese Befunde stellen einen wichtigen Hinweis darauf dar, daß der frequenzlimitierende Schritt in der  $\beta$ -adrenergen Übertragung auf den Sinusknoten beim Hund nicht in der Diffusionsstrecke des Transmitters, sondern in einem dem cAMP nachgeschalteten Schritt lokalisiert sein muß. Dieser Schritt könnte die Phosphorylierung und Öffnung der L-Typ Kalziumkanäle sein. Unklar bleibt dabei jedoch immer noch die Frage, warum die sympathische Übertragung auf den Sinusknoten bei Ratten schneller (mit höheren Frequenzen) möglich ist (bis 0.5 Hz) als beim Hund oder beim Menschen (bis 0.15 Hz). Falls die Phosphorylierung und Öffnung der L-Typ Kalziumkanäle entscheidend ist, müßte gefordert werden, daß diese Kanäle bei der Ratte schneller sind als beim Hund oder beim Menschen.

Die sympathische Übertragung auf den Sinusknoten (während muskarinerger Blockade) war mindestens vier mal langsamer als die parasympathische Übertragung (während  $\beta$ -adrenerger Blockade). Die obere Grenzfrequenz (d.h. die schnellste Frequenz, die übertragen werden kann) betrug für die sympathische Übertragung ungefähr 0.5 Hz, während die parasympathische Übertragung bis zur höchsten angewendeten Stimulationsfrequenz von 2.0 Hz nicht eingeschränkt war. Diese Beobachtung bestätigt Studien am Menschen [77] und am narkotisierten Hund [7], die gezeigt haben, daß die sympathische Übertragung auf den Sinusknoten träger ist als die parasympathische Übertragung. Die schnellere Ansprechbarkeit der Herzfrequenz auf parasympathische Reize als auf sympathische Einflüsse kann dadurch erklärt werden, daß der Parasympathikus seine Wirkung auf den Sinusknoten durch sehr schnelle, ligand-gesteuerte Kaliumkanäle vermittelt, während für die sympathischen Effekte die Phosphorylierung und Öffnung von langsamen L-Typ Kalziumkanälen erforderlich ist. Allerdings war die obere Grenzfrequenz der sympathischen Übertragung auf den Sinusknoten in den hier beschriebenen Experimenten bei der wachen Ratte etwa fünf mal höher als beim Menschen oder beim Hund (0.5 Hz bei der Ratte versus 0.1 Hz beim Mensch und beim Hund). Dieser Befund unterstreicht die Notwendigkeit bei der Interpretation von Powerspektren stets die untersuchte Spezies zu berücksichtigen, da die Frequenzbereiche der sympathischen Modulation der Herzfrequenz und des Blutdrucks bei Ratten [85, 88, 90], Katzen [49], Hunden [1, 2] und Menschen [51] sehr unterschiedlich sind. Der Befund, daß die sympathische Übertragung auf die Schrittmacherzellen des Herzens bei Ratten viel schneller erfolgt als bei anderen Spezies wirft die Frage nach den Ursachen dieser Speziesdifferenz auf. Die hier vorgestellten Experimente waren nicht zur Klärung dieser Frage ausgelegt. Dennoch könnte man spekulieren, daß neben der oben genannten Hypothese der schnelleren Öffnung von Kalziumkanälen Unterschiede in der Weite des synaptischen Spalts (nimmt ab 5  $\mu\text{m}$  an Bedeutung zu, siehe Abb. 5.1), sowie in der Dichte und der Ver-

teilung der sympathischen Innervation bei Hunden und Menschen im Sinne eines zusätzlichen Zeitfaktors an Bedeutung gewinnen. Dieses Zeitglied kann jedoch maximal einen Zeitfaktor in der Größenordnung von ungefähr 1 s erklären, da die cAMP Konzentrationen beim Hund sympathischen Oszillationen mit einer Frequenz von 1.0-1.5 Hz folgen können [46].

## 5.4 Schlußfolgerungen

In der vorliegenden Habilitationsschrift wurde gezeigt, daß mesenteriale Blutgefäße bei der wachen Ratte auf sympathische Stimuli mit Frequenzen von 0.05 bis 1.0 Hz mit rhythmischen Vasomotionen reagieren können. Die größte dynamische Antwort der glatten Gefäßmuskulatur auf sympathische Reize finden sich bei der wachen Ratte allerdings im Frequenzband von 0.2 bis 0.5 Hz. Durch elektrische Stimulation des hypothalamischen PVN und simultane Registrierung der peripheren sympathischen Nervenaktivität konnte gezeigt werden, daß bei der Übertragung vom zentralen Nervensystem auf periphere sympathische Nerven kein Tiefpassverhalten im Frequenzbereich bis 2.0 Hz auftritt. Die Übertragung von möglichen zentralen Oszillatoren auf periphere sympathische Nerven ist also in Bezug auf die sympathische Modulation des Gefäßtonus nicht frequenzlimitierend. Der frequenzlimitierende Schritt scheint vielmehr den sympathischen Varikositäten nachgeschaltet zu sein. Da die sympathische Übertragung auf den Sinusknoten und auf die glatte Gefäßmuskulatur das gleiche Frequenzverhalten aufweist, während die adrenerge und muskarinerge Übertragung auf den Sinusknoten des Herzens völlig unterschiedliche Frequenzcharakteristiken aufweisen kann vermutet werden, daß der frequenzlimitierende Schritt in der sympathischen Übertragung auf die Blutgefäße und auf den Sinusknoten identisch oder sehr ähnlich sind, während dieser frequenzlimitierende Schritt in der parasympathischen Signalkaskade nicht vorkommt. Ein möglicher Kandidat für den frequenzlimitierenden Schritt ist die Phosphorylierung und Öffnung von langsamen L-Typ Kalziumkanälen. Die dynamischen Effekte der Herzfrequenz auf elektrische Stimulationen des PVN während  $\beta$ -adrenerger Rezeptorblockade zeigten ferner, daß bei wachen Ratten parasympathische Stimuli mit Frequenzen bis mindestens 2.0 Hz ungehindert auf den Sinusknoten übertragen werden können. Diese schnelle parasympathische Übertragung kann dadurch erklärt werden, daß die parasympathische Wirkung auf den Sinusknoten durch das Öffnen von schnellen ligand-gesteuerten Kaliumkanälen vermittelt wird, während die langsamen L-Typ Kalziumkanäle dabei nicht beteiligt sind. Schließlich konnte eine neue Methode zur Untersuchung der Ansprechbarkeit von Blutgefäßen auf sympathische Stimuli beim Menschen etabliert

werden und damit der direkte Beweis erbracht werden, daß die sympathische Übertragung auf Hautgefäße beim Menschen im Frequenzbereich von 0.075 bis 0.1 Hz am effektivsten ist. Dies bedeutet, daß die sympathische Übertragung auf die glatte Muskulatur von Mesenterialgefäßen bei Ratten ungefähr fünf mal schneller erfolgen kann als die sympathische Übertragung auf Hautgefäße beim Menschen. Ob es sich dabei um Speziesunterschiede oder um organspezifische Unterschiede handelt ist bisher nicht geklärt. Weitere Studien sind notwendig, um die Ursachen dieser offensichtlichen Unterschiede zu erforschen.

# Literaturverzeichnis

- [1] **Akselrod, S., D. Gordon, J. B. Madwed, N. C. Snidman, D. C. Shannon, and R. J. Cohen.** Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. *Am. J. Physiol.* 249:H867–H875, 1985.
- [2] **Akselrod, S., D. Gordon, F. A. Ubel, D. C. Shannon, A. C. Berger, and R. J. Cohen.** Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science* 213:220–222, 1981.
- [3] **Anderson, E. A., B. G. Wallin, and A. L. Mark.** Dissociation of sympathetic nerve activity in arm and leg muscle during mental stress. *Hypertension* 9:III114–III119, 1987.
- [4] **Anderson, E. A., C. A. Sinkey, W. J. Lawton, and A. L. Mark.** Elevated sympathetic nerve activity in borderline hypertensive humans. *Hypertension* 14:177–183, 1989.
- [5] **Badoer, E.** Cardiovascular role of parvocellular neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *News Physiol. Sci.* 11:43–47, 1996.
- [6] **Berger, R. D., S. Akselrod, D. Gordon, and R. J. Cohen.** An efficient algorithm for spectral analysis of heart rate variability. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 9:900–904, 1986.
- [7] **Berger, R. D., J. P. Saul, and R. J. Cohen.** Transfer function analysis of autonomic regulation. I. canine atrial rate response. *Am. J. Physiol.* 256:H142–H152, 1989.
- [8] **Bevan, J. A.** Some functional consequences of variation in adrenergic synaptic cleft width and in nerve density and distribution. *Fed. Proc.* 36(10):2439–2443, 1977.



- [9] **Bierbrier, G. S., P. C. Adams, and R. D. Feldman.** Vascular alpha-adrenergic responsiveness is reduced in cirrhosis. *Clin. Pharmacol. Ther.* 56(6 Pt 1):668–671, 1994.
- [10] **Blanc, J., M. L. Grichois, M. Vincent, and J. L. Elghozi.** Spectral analysis of blood pressure and heart rate variability in response to stress from air-jet in the Lyon rat. *J. Auton. Pharmacol.* 14:37–48, 1994.
- [11] **Brown, D. R., L. V. Brown, A. Patwardhan, and D. C. Randall.** Sympathetic activity and blood pressure are tightly coupled at 0.4 hz in conscious rats. *Am. J. Physiol.* 267:R1378–R1384, 1994.
- [12] **Cevese, A., R. Grasso, R. Poltronieri, and F. Schena.** Vascular resistance and arterial pressure low-frequency oscillations in the anesthetized dog. *Am J Physiol* 268:H7–H16, 1995.
- [13] **Chanudet, X., R. Rabasa, N. P. Chau, B. Bauduceau, J. M. Garcin, D. Gautier, and P. Larroque.** Comparative evaluation of diabetic cardiac autonomic neuropathy by spectrum analysis and Ewing’s tests. *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.* 86:1143–1148, 1993.
- [14] **Cohn, J. N.** The sympathetic nervous system in heart failure. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 14 Suppl 5:S57–S61, 1989.
- [15] **Dampney, R. A., M. G. Taylor, and E. M. McLachlan.** Reflex effects of stimulation of carotid sinus and aortic baroreceptors on hindlimb vascular resistance in dogs. *Circ. Res.* 29:119–127, 1971.
- [16] **Dassi, S., M. Balsama, S. Guzzetti, G. B. Ponti, L. Magni, M. Pagani, and A. Malliani.** Twenty-four-hour power spectral analysis of heart rate variability and of arterial pressure values in normotensive and hypertensive subjects. *J. Hypertens.* 9 (Suppl.):S72–S73, 1991.
- [17] **Delp, M. D., R. O. Mannig, J. V. Bruckner, and R. B. Armstrong.** Distribution of cardiac output during diurnal changes of activity in rats. *Am. J. Physiol.* 261:H1487–H1493, 1991.
- [18] **DiBona, G. F., and S. Y. Jones.** Analysis of renal sympathetic nerve responses to stress. *Hypertension* 25(1):531–538, 1995.

- [19] **Doležel, S., M. Gerová, J. Gero, and J. Feit.** Diffusion through the vessel wall of transmitter released by sympathetic stimulation. A fluorescence and autoradiography study. *Blood Vessels* 12(2):108–121, 1975.
- [20] **Eichler, H. G., T. F. Blaschke, F. B. Kraemer, G. A. Ford, B. Blochl-Daum, and B. B. Hoffman.** Responsiveness of superficial hand veins to alpha-adrenoceptor agonists in insulin-dependent diabetic patients. *Clin. Sci.* 82(2):163–168, 1992.
- [21] **Elghozi, J. L., D. Laude, and F. Janvier.** Clonidine reduces blood pressure and heart rate oscillations in hypertensive patients. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 17:935–940, 1991.
- [22] **Esler, M.** Clinical application of noradrenaline spillover methodology: Delineation of regional human sympathetic nervous responses. *Pharmacol. Toxicol.* 73(5):243–253, 1993.
- [23] **Esler, M., H. Skews, P. Leonard, G. Jackman, A. Bobik, and P. Korner.** Age-dependence of noradrenaline kinetics in normal subjects. *Clin. Sci.* 60:217–219, 1981.
- [24] **Esler, M. D., J. M. Thompson, D. M. Kaye, A. G. Turner, G. L. Jennings, H. S. Cox, G. W. Lambert, and D. R. Seals.** Effects of aging on the responsiveness of the human cardiac sympathetic nerves to stressors. *Circulation* 91:351–358, 1995.
- [25] **Esterhuizen, A. C., J. D. P. Graham, J. D. Lever, and T. L. B. Spriggs.** Catecholamine and acetylcholinesterase distribution in relation to noradrenalin release. *Br. J. Pharmacol.* 32:46–56, 1968.
- [26] **Floras, J. S.** Clinical aspects of sympathetic activation and parasympathetic withdrawal in heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 22 (4 Suppl. A):72A–84A, 1993.
- [27] **Folkow, B., G. F. DiBona, P. Hjerdahl, P. Thorén, and B. G. Wallin.** Measurements of plasma norepinephrine concentrations in human primary hypertension. A word of caution on their applicability for assessing neurogenic contributions. *Hypertension* 5:399–403, 1983.
- [28] **Freeman, R., J. P. Saul, M. S. Roberts, R. D. Berger, C. Broadbridge, and R. J. Cohen.** Spectral analysis of heart rate in diabetic autonomic neuropathy. A comparison with standard tests of autonomic function. *Arch. Neurol.* 48:185–190, 1991.

- [29] **Furness, J. B.** Arrangement of blood vessels and their relation with adrenergic nerves in the rat mesentery. *J. Anat.* 115:347–364, 1973.
- [30] **Guzzetti, S., E. Piccaluga, R. Casati, S. Cerutti, F. Lombardi, and M. Pagani.** Sympathetic predominance in essential hypertension: A study employing spectral analysis of heart rate variability. *Hypertension* 6:711–717, 1988.
- [31] **Haynes, W. G., M. J. Cullen, and D. J. Webb.** Increase in skin microcirculatory blood flow after local renin inhibition in man. *J. Hypertens.* 9(Suppl. 6):S228–S229, 1991.
- [32] **Hill, C. E., G. D. S. Hirst, and D. F. van Helden.** Development of sympathetic innervation to proximal and distal arteries of the rat mesentery. *J. Physiol.* 338:129–147, 1983.
- [33] **Hirst, G. D. S., and F. R. Edwards.** Sympathetic neuroeffector transmission in arteries and arterioles. *Physiol. Rev.* 69(2):546–604, 1989.
- [34] **Hoffman, R. P., C. A. Sinkey, and E. A. Anderson.** Muscle sympathetic nerve activity is higher in intensively versus conventionally treated iddm subjects. *Diabetes Care* 18(3):287–291, 1995.
- [35] **Hoffman, R. P., C. A. Sinkey, M. G. Kienzle, and E. A. Anderson.** Muscle sympathetic nerve activity is reduced in IDDM before overt autonomic neuropathy. *Diabetes* 42(3):375–380, 1993.
- [36] **Hogikyan, R. V., and M. A. Supiano.** Arterial alpha-adrenergic responsiveness is decreased and SNS activity is increased in older humans. *Am. J. Physiol.* 266:E717–E724, 1994.
- [37] **Itoh, H., K. Takeda, K. Nakamura, H. Fujita, A. Uchida, T. Kuwahara, K. Takenaka, M. Tanaka, T. Nakata, S. Sasaki, and M. Nakagawa.** Young borderline hypertensives are hyperreactive to mental arithmetic stress: Spectral analysis of R-R intervals. *J. Auton. Nerv. Syst.* 54:155–162, 1995.
- [38] **Janssen, B. J. A., J. Oosting, D. W. Slaaf, P. B. Persson, and H. A. J. Struyker-Boudier.** Hemodynamic basis of oscillations in systemic arterial pressure in conscious rats. *Am. J. Physiol.* 269:H62–H71, 1995.

- [39] **Japundzic, N., M. L. Grichois, P. Zitoun, D. Laude, and J. L. Elghozi.** Spectral analysis of blood pressure and heart rate in conscious rats: Effect of autonomic blockers. *J. Auton. Nerv. Syst.* 30:91–100, 1990.
- [40] **Julien, C., Z. Q. Zhang, C. Cerutti, and C. Barres.** Hemodynamic analysis of arterial pressure oscillations in conscious rats. *J. Auton. Nerv. Syst.* 50:239–252, 1995.
- [41] **Just, A., C. D. Wagner, H. Ehmke, H. R. Kirchheim, and P. B. Persson.** On the origin of low-frequency blood pressure variability in the conscious dog. *J. Physiol.* 489(1):215–223, 1995.
- [42] **Kannan, H., Y. Hayashida, and H. Yamashita.** Increase in sympathetic outflow by paraventricular nucleus stimulation in awake rats. *Am. J. Physiol.* 256(25):R1325–R1330, 1989.
- [43] **Kingwell, B. A., J. M. Thompson, D. M. Kaye, G. A. McPherson, G. L. Jennings, and M. D. Esler.** Heart rate spectral analysis, cardiac norepinephrine spillover, and muscle sympathetic nerve activity during human sympathetic nervous activation and failure. *Circulation* 90:234–240, 1994.
- [44] **Knuepfer, M. M., A. K. Johnson, and M. J. Brody.** Identification of brainstem projections mediating hemodynamic responses to stimulation of the anteroventral third ventricle (AV3V) region. *Brain Res.* 294:305–314, 1984.
- [45] **Knuepfer, M. M., A. K. Johnson, and M. J. Brody.** Vasomotor projections from the anteroventral third ventricle (AV3V) region. *Am. J. Physiol.* 247:H139–H145, 1984.
- [46] **Krause, E.-G., S. Bartel, I. Beyerdörfer, W. Freier, K. Gerber, and D. Obst.** Transient changes in cyclic amp and in enzymatic activity of protein kinase and phosphorylase during the cardiac cycle in the canin myocardium and the effect of propranolol. *Mol. Cell. Biochem.* 89:181–186, 1989.
- [47] **Kregel, K., H. Stauss, and T. Unger.** Modulations of autonomic nervous system adjustments to heat stress by central ANG II receptor antagonism. *Am. J. Physiol.* 266:R1985–R1991, 1994.

- [48] **Lawrence, D., and Q. J. Pittman.** Interaction between descending paraventricular neurons and vagal motor neurons. *Brain Res.* 332(1):158–160, 1985.
- [49] **Lombardi, F., N. Montano, M. L. Finocchiaro, T. G. Ruscone, G. Baselli, S. Cerutti, and A. Malliani.** Spectral analysis of sympathetic discharge in decerebrate cats. *J. Auton. Nerv. Syst.* 30:S97–S100, 1990.
- [50] **Luiten, P. G. M., G. J. ter Horst, H. Karst, and A. B. Steffens.** The course of paraventricular hypothalamic efferents to autonomic structures in medulla and spinal cord. *Brain Res.* 329:374–378, 1985.
- [51] **Malliani, A., M. Pagani, F. Lombardi, and S. Cerutti.** Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 84(2):482–492, 1991.
- [52] **Malliani, A., M. Pagani, F. Lombardi, R. Furlan, S. Guzzetti, and S. Cerutti.** Spectral analysis to assess increased sympathetic tone in arterial hypertension. *Hypertension* 17(Suppl. 4, III):III–36–III–42, 1991.
- [53] **Mancia, G., G. Grassi, G. Parati, and A. Daffonchio.** Evaluating sympathetic activity in human hypertension. *J. Hypertens.* 5 (Suppl. 11):S13–S19, 1993.
- [54] **Meredith, I. T., P. Friberg, G. L. Jennings, E. M. Dewar, V. A. Fazio, G. W. Lambert, and M. D. Esler.** Exercise training lowers resting renal but not cardiac sympathetic activity in humans. *Hypertension* 18:575–582, 1991.
- [55] **Morris, R. G., M. G. Venning, and I. S. de la Lande.** Influence of uptake1 and uptake2 on the relationship between diffusion and metabolism of noradrenaline in the perfused rabbit ear artery. *Blood Vessels* 25(5):217–231, 1988.
- [56] **Mortara, A., M. T. La Rovere, and M. G. Signorini.** Can power spectral analysis of heart rate variability identify a high risk subgroup of congestive heart failure patients with excessive sympathetic activation? *Br. Heart J.* 71:422–430, 1994.

- [57] **Munakata, M., Y. Imai, J. Hashimoto, K. Omata, M. Nakao, M. Yamamoto, and K. Abe.** Normal sympathetic vasomotor and cardiac parasympathetic activities in patients with primary aldosteronism: Assessment by spectral analysis. *J. Auton. Nerv. Syst.* 52:213–223, 1995.
- [58] **Nafz, B., C. D. Wagner, and P. B. Persson.** Endogenous nitric oxide buffers blood pressure variability between 0.2 Hz and 0.6 Hz in the conscious rat. *Am. J. Physiol.* 1997.
- [59] **Netten, P. M., J. M. M. Boots, S. J. H. Bredie, J. A. C. J. Den Arend, M. J. T. M. Mol, T. Thien, W. H. L. Hoefnagels, and J. A. Lutterman.** An automated computerized method using Finapres for measuring cardiovascular reflexes. *Clinical Science* 83:157–163, 1992.
- [60] **Pagani, M., R. Furlan, P. Pizzinelli, W. Crivellaro, S. Cerutti, and A. Malliani.** Spectral analysis of R-R and arterial pressure variabilities to assess sympatho-vagal interaction during mental stress in humans. *J. Hypertens.* 7(Suppl. 6):S14–S15, 1989.
- [61] **Pagani, M., F. Lombardi, S. Guzzetti, O. Rimoldi, R. Furlan, P. Pizzinelli, G. Sandrone, G. Malfatto, S. Dell’Orto, E. Piccaluga, M. Turiel, G. Baselli, S. Cerutti, and A. Malliani.** Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. *Circ. Res.* 59:178–193, 1986.
- [62] **Pagani, M., G. Mazzuero, A. Ferrari, D. Liberati, S. Cerutti, D. Vaitl, L. Tavazzi, and A. Malliani.** Sympathovagal interaction during mental stress: A study employing spectral analysis of heart rate variability in healthy controls and in patients with a prior myocardial infarction. *Circulation* 83(4 Suppl):II43–II51, 1991.
- [63] **Parati, G., J. P. Saul, M. Di Rienzo, and G. Mancina.** Spectral analysis of blood pressure and heart rate variability in evaluating cardiovascular regulation - A critical appraisal. *Hypertension* 25:1276–1286, 1995.
- [64] **Paxinos, G., and C. Watson.** The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, Inc., San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto, 2nd edition, 1986.

- [65] **Persson, P. B., H. Stauss, O. Chung, U. Wittmann, and T. Unger.** Spectrum analysis of sympathetic nerve activity and blood pressure in conscious rats. *Am. J. Physiol.* 263:H1348–H1355, 1992.
- [66] **Persson, P. B.** Modulations of cardiovascular control mechanisms and their interaction. *Physiol. Rev.* 76(1):193–244, 1996.
- [67] **Polster, J., H. Seller, P. Langhorst, and H. P. Koepchen.** Zeitliche Eigenschaften der Vasomotorik I. Über den Verlauf von Widerstandsänderungen an Hautgefäßen bei indirekter Reizung. *Pflügers Archiv* 296:95–109, 1967.
- [68] **Ponchon, P., and J. L. Elghozi.** Contribution of the renin-angiotensin and kallikrein-kinin system to short-term variability of blood pressure in two-kidney, one-clip hypertensive rats. *Europ. J. Pharmacol.* 297:61–70, 1996.
- [69] **Ponchon, P., M.-L. Grichois, J.-P. Girolami, and J.-L. Elghozi.** Effects of bradykinin on short-term variability in blood pressure and heart rate in rats: A spectral study. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 25:914–923, 1995.
- [70] **Rettig, R., J. U. Meyer, R. Gerstberger, M. P. Printz, and M. Intaglietta.** Central angiotensin II stimulates arteriolar vasomotion in conscious hamsters. *J. Comp. Physiol.* 159:577–582, 1989.
- [71] **Rimoldi, O., S. Pierini, A. Ferrari, S. Cerutti, M. Pagani, and A. Malliani.** Analysis of short-term oscillations of r-r and arterial pressure in conscious dogs. *Am J Physiol* 258:H967–H976, 1990.
- [72] **Ristuccia, H. L., P. Grossman, L. L. Watkins, and B. Lown.** Incremental bias in Finapres estimation of baseline blood pressure levels over time. *Hypertension* 29(4):1039–1043, 1997.
- [73] **Rogers, R. C., and G. E. Hermann.** Hypothalamic paraventricular nucleus stimulation-induced gastric acid secretion and bradycardia suppressed by oxytocin antagonist. *Peptides* 7(4):695–700, 1986.
- [74] **Rosenbaum, M., and D. Race.** Frequency-response characteristics of vascular resistance vessels. *Am. J. Physiol.* 215:1397–1402, 1968.
- [75] **Saper, C. B., A. D. Loewy, L. W. Swanson, and W. M. Cowan.** Direct hypothalamo-autonomic connections. *Brain Res.* 117:305–312, 1976.

- [76] **Saul, J. P., Y. Arai, R. D. Berger, L. S. Lilly, W. S. Colucci, and R. J. Cohen.** Assessment of autonomic regulation in chronic congestive heart failure by heart rate spectral analysis. *Am. J. Cardiol.* 61:1292–1299, 1988.
- [77] **Saul, J. P., R. D. Berger, P. Albrecht, S. P. Stein, M. H. Chen, and R. J. Cohen.** Transfer function analysis of the circulation: Unique insights into cardiovascular regulation. *Am. J. Physiol.* 261:H1231–H1245, 1991.
- [78] **Saul, J. P., R. D. Berger, M. H. Chen, and R. J. Cohen.** Transfer function analysis of autonomic regulation. II. respiratory sinus arrhythmia. *Am. J. Physiol.* 256(25):H153–H161, 1989.
- [79] **Schad, H., and H. Seller.** A method for recording autonomic nerve activity in unanesthetized, freely moving cats. *Brain Res.* 100:425–430, 1975.
- [80] **Seals, D. R.** Influence of force on muscle and skin sympathetic nerve activity during sustained isometric contractions in humans. *J. Physiol. (Lond)* 462:147–159, 1993.
- [81] **Seller, H., P. Langhorst, J. Polster, and H. P. Koepchen.** Zeitliche Eigenschaften der Vasomotorik II. Erscheinungsformen und Entstehung spontaner und nervös induzierter Gefäßrhythmen. *Pflügers Archiv* 296:110–132, 1967.
- [82] **Sleight, P., M. T. La Rovere, A. Mortara, G. Pinna, R. Maestri, S. Leuzzi, B. Bianchini, L. Tavazzi, and L. Bernardi.** Physiology and pathophysiology of heart rate and blood pressure variability in humans: Is power spectral analysis largely an index of baroreflex gain? *Clinical Science* 88:103–109, 1995.
- [83] **Stauss, H., O. Busch, and T. Unger.** Positiv inotroper Effekt von zentralem Angiotensin II. *Nieren- und Hochdruckkrankheiten* 21(11):634–636, 1992.
- [84] **Stauss, H., H. Weidner, B. Stauss, and T. Unger.** Rolle des Barorezeptorenreflexes bei der zentralen Blutdruckwirkung von Angiotensin II. *Nieren- und Hochdruckkrankheiten* 20/10:510–512, 1991.
- [85] **Stauss, H. M., E. A. Anderson, W. G. Haynes, and K. C. Kregel.** Frequency response characteristics of sympathetically-mediated vasomotor waves in humans. *Am. J. Physiol.* 1998. [in press].



- [86] **Stauss, H. M., D. A. Morgan, K. E. Anderson, M. P. Massett, and K. C. Kregel.** Aging is not accompanied by sympathetic hyper-responsiveness to air jet stress. *Am. J. Physiol.* 271(40):H768–H775, 1996.
- [87] **Stauss, H. M., R. Mrowka, B. Nafz, A. Patzak, T. Unger, and P. B. Persson.** Does low frequency power of arterial blood pressure reflect sympathetic tone? *J. Auton. Nerv. Syst.* 54(2):145–154, 1995.
- [88] **Stauss, H. M., P. B. Persson, A. K. Johnson, and K. C. Kregel.** Frequency response characteristic of autonomic nervous system function in conscious rats. *Am. J. Physiol.* 273(42):H786–H795, 1997.
- [89] **Stauss, H. M., D. A. Morgan, K. E. Anderson, M. P. Massett, and K. C. Kregel.** Modulation of baroreflex sensitivity and spectral power of blood pressure by heat stress and aging. *Am. J. Physiol.* 272(41):H776–H784, 1997.
- [90] **Stauss, H. M., and K. C. Kregel.** Frequency response characteristic of sympathetic mediated vasomotor waves in conscious rats. *Am. J. Physiol.* 271(40):H1416–H1422, 1996.
- [91] **Svanegaard, J., J. B. Johansen, P. Thayssen, and T. Haghfelt.** Neurohormonal systems during progression of heart failure: A review. *Cardiology* 83:21–29, 1993.
- [92] **Swanson, L. W., and H. G. J. M. Kuypers.** The paraventricular nucleus of the hypothalamus: Cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling methods. *J. Comp. Neurol.* 194:555–570, 1980.
- [93] **Tesfamariam, B., and R. A. Cohen.** Enhanced adrenergic neurotransmission in diabetic rabbit carotid artery. *Cardiovasc. Res.* 29(4):549–554, 1995.
- [94] **Thorén, P., and S. E. Ricksten.** Recordings of renal and splanchnic sympathetic nervous activity in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Clin. Science* 57:197s–199s, 1979.
- [95] **Verity, M. A., and J. A. Bevan.** Fine structural study of the terminal effector plexus, neuromuscular and intermuscular relationships in the pulmonary artery. *J. Anat.* 103:49–63, 1968.

- [96] **Vissing, S. F., U. Scherrer, and R. G. Victor.** Increase of sympathetic discharge to skeletal muscle but not to skin during mild lower body negative pressure in humans. *J. Physiol.* 481:233–241, 1994.
- [97] **Wagner, C. D., R. Mrowka, B. Nafz, and P. B. Persson.** Complexity and "chaos" in blood pressure after baroreceptor denervation of conscious dogs. *Am. J. Physiol.* 269(38):H1760–H1766, 1995.
- [98] **Wagner, C. D., B. Nafz, and P. B. Persson.** Chaos in blood pressure control. *Cardiovasc. Res.* 31:380–387, 1996.
- [99] **Wagner, C. D., and P. B. Persson.** Nonlinear chaotic dynamics of arterial blood pressure and renal blood flow. *Am. J. Physiol.* 268:H621–H627, 1995.
- [100] **Wagner, J., A. Wystrychowski, H. Stauss, D. Ganten, and E. Ritz.** Decreased renal haemodynamic response to inhibition of nitric oxide synthase in subtotally nephrectomized rats. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* 430(2):181–187, 1995.
- [101] **Wallin, B. G., and M. Elam.** Insights from intraneural recordings of sympathetic nerve traffic in humans. *NIPS* 9:203–207, 1994.
- [102] **Willenbrock, R., H. M. Stauss, M. Scheuermann, K. J. Osterziel, T. Unger, and R. Dietz.** Effect of chronic volume overload on baroreflex control of heart rate and sympathetic nerve activity. *Am. J. Physiol.* 1997. [in press].
- [103] **Yamamoto, K., S. Iwase, and T. Mano.** Responses of muscle sympathetic nerve activity and cardiac output to the cold pressor test. *Jpn. J. Physiol.* 42(2):239–252, 1992.
- [104] **Ziegler, D., K. Dannehl, H. Muhlen, M. Spuler, and F. A. Gries.** Prevalence of cardiovascular autonomic dysfunction assessed by spectral analysis, vector analysis, and standard tests of heart rate variation and blood pressure responses at various stages of diabetic neuropathy. *Diabet. Med.* 9:806–814, 1992.

# Danksagung

Die Einreichung dieser Arbeit beim Habilitationsausschuß der Humboldt Universität - Charité stellt einen bedeutenden Höhepunkt in meiner beruflichen Laufbahn dar. Der Weg dahin war nicht immer eben, sondern oft steil ansteigend und schweißtreibend, dann jedoch wieder jäh abfallend und ernüchternd, niemals war ich auf diesem Weg aber einsam. Meinen Weggenossen möchte ich daher an dieser Stelle meinen besonderen Dank aussprechen. An erster Stelle sind meine Eltern zu nennen, die mich ermuntert haben die notwendige Schulbildung zu erlangen und mich während meines Studiums stets tatkräftig unterstützt haben. Als nächstes gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. Rainer Rettig, dem ich meine wissenschaftliche Grundausbildung verdanke, sowie Herrn Prof. Dr. med. Thomas Unger, in dessen Abteilung ich als post-doc tätig sein durfte und der mich ermuntert hat, einen Forschungsaufenthalt im Ausland anzustreben. Als weiterem Weggefährten gebührt Herrn Prof. Pontus Persson mein Dank dafür, daß er mir den Pfad von der Pharmakologie zur Physiologie gezeigt hat. Ein weiterer treuer Begleiter auf meinem wissenschaftlichen Weg ist Prof. Kevin Kregel, der meinen Weg in Heidelberg in der Abteilung von Prof. Unger zum ersten mal gekreuzt hat. Er führte mich im Rahmen eines Forschungsstipendiums ins Cardiovascular Center von Iowa City wo die wichtigsten Arbeiten dieser Habilitationsschrift entstanden sind. Außer Prof. Kregel waren an den hier beschriebenen Experimenten Prof. Alan Kim Johnson, Dr. Erling Anderson, Dr. William Haynes, Frau Christine Sinkey und Herr Karl Anderson wesentlich beteiligt. Bei der Alexander von Humboldt Stiftung möchte ich mich besonders dafür bedanken, daß sie mir mit einem Feodor-Lynen Stipendium die Möglichkeit gab einen Forschungsaufenthalt in Iowa City bei Prof. Kevin Kregel und Prof. Alan Kim Johnson durchzuführen. Schließlich möchte ich mich bei meiner Ehefrau Margarita für die vielen Entbehrungen aber auch für die vielen schönen Tage während unseres Amerikaaufenthaltes bedanken.

# Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt:

- daß keine staatsanwaltlichen Ermittlungsverfahren gegen mich anhängig sind
- daß weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde
- daß die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfaßt und die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden
- daß die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften sowie die Literatur vollständig angegeben sind
- daß mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....  
Ort, Datum

.....  
Unterschrift